

# **Einflüsse von HES (200/0,5) und HES (130/0,4) auf die Thrombozytenfunktion und das zirkulierende Blutvolumen**

**Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin  
des Fachbereichs Medizin  
der Justus-Liebig-Universität Gießen**

**vorgelegt von Thorsten Möller aus Hanau  
Gießen 2005**

**Aus dem Medizinischen Zentrum  
für Chirurgie, Anästhesiologie und Urologie  
Abteilung Anästhesiologie, Operative  
Intensivmedizin, Schmerztherapie  
Leiter: Prof. Dr. med. Dr. h.c. G. Hempelmann  
des Klinikums der Justus-Liebig-Universität  
Gießen**

**Gutachter: PD Dr. Dietrich  
Gutachter: PD Dr. Hackstein  
Tag der Disputation: 15.06.2005**

Ich erkläre: Ich habe die vorgelegte Dissertation selbstständig, ohne unerlaubte fremde Hilfe und nur mit den Hilfen angefertigt, die ich in der Dissertation angegeben habe. Alle Textstellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten oder nicht veröffentlichten Schriften entnommen sind, und alle Angaben, die auf mündlichen Auskünften beruhen, sind als solche kenntlich gemacht. Bei den von mir durchgeführten und in der Dissertation erwähnten Untersuchungen habe ich die Grundsätze guter wissenschaftlicher Praxis, wie sie in der "Satzung der Justus-Liebig-Universität Gießen zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis" niedergelegt sind, eingehalten.

# Inhalt

<b>1. EINLEITUNG</b>	<b>7</b>
<b>1.1. VOLLELEKTROLYTLÖSUNGEN</b>	<b>7</b>
<b>1.2. KOLLOIDALE LÖSUNGEN</b>	<b>8</b>
1.2.1. HYDROXYETHYLSTÄRKE	9
1.2.1.1. Physikochemische Eigenschaften	9
1.2.1.2. Metabolismus und Elimination	11
1.2.1.3. Nierenfunktion	11
1.2.1.4. Blutgerinnung	12
<b>1.3. ANGEWANDTE METHODEN</b>	<b>14</b>
<b>1.4. ZIELSETZUNG UND FRAGESTELLUNG</b>	<b>16</b>
<b>2. METHODIK UND MATERIAL</b>	<b>17</b>
<b>2.1. STUDIENVORSTELLUNG</b>	<b>17</b>
2.1.1. STUDIENKOLLEKTIVE	17
2.1.2. ZEITLICHER ABLAUF DER KLINISCHEN STUDIE	18
2.1.3. BLUTENTNAHME UND AUFBEREITUNG	19
<b>2.2. INDUZIERTER THROMBOZYTENAGGREGATION IM VOLLBLUT</b>	<b>22</b>
2.2.1. IMPEDANZAGGREGOMETRIE NACH CARDINAL UND FLOWER	22
2.2.1.1. Testprinzip	22
2.2.1.2. Durchführung	22
2.2.1.3. Material	24
2.2.2. THROMBELASTOGRAPHIE	25
2.2.2.1. Testprinzip	25
2.2.2.2. Durchführung	26
2.2.2.3. Material	27
2.2.3. IN-VITRO BLUTUNGSTEST	27
2.2.3.1. Testprinzip	27
2.2.3.2. Durchführung	29
2.2.3.3. Material	30
<b>2.3. INDUZIERTER THROMBOZYTENAGGREGATION IM PLÄTTCHENREICHEN PLASMA</b>	<b>30</b>
2.3.1. TESTPRINZIP:	30
2.3.2. DURCHFÜHRUNG	31
2.3.3. MATERIAL	32
<b>2.4. BLUTVOLUMEN-BESTIMMUNG</b>	<b>33</b>
2.4.1. ERYTHROZYTENVOLUMEN MIT DER DURCHFLUSSZYTOMETRIE	33
2.4.1.1. Testprinzip	33
2.4.1.2. Durchführung	33
2.4.1.2.1. Herstellung der Erythrozytensuspension mit Natriumfluorescein	33
2.4.1.2.2. Blutentnahme	34
2.4.1.2.3. Messung am Durchflusszytometer	34
2.4.1.3. Material	35
2.4.2. BESTIMMUNG DES PLASMAVOLUMENS AM PHOTOMETER MIT INDOCYANINGRÜN	36



2.4.2.1. Testprinzip	36
2.4.2.2. Durchführung	36
2.4.2.3. Material	37
<b>2.5. BLUTKÖRPERCHENSENKUNGSGESCHWINDIGKEIT (BSG)</b>	<b>37</b>
2.5.1. TESTPRINZIP	37
2.5.2. DURCHFÜHRUNG	37
2.5.3. MATERIAL	38
<b>2.6. BLUTBILD</b>	<b>39</b>
2.6.1. TESTPRINZIP	39
2.6.2. DURCHFÜHRUNG	39
2.6.3. MATERIAL	40
<b>2.7. STATISTISCHE METHODEN</b>	<b>41</b>
 <b>3. ERGEBNISSE</b>	 <b>42</b>
 <b>3.1. KLINISCHE STUDIE</b>	 <b>42</b>
3.1.1. IMPEDANZAGGREGOMETRIE NACH CARDINAL UND FLOWER	42
3.1.2. THROMBELASTOGRAPHIE	44
3.1.3. IN-VITRO BLUTUNGSTEST	45
3.1.3.1. Agonist: Epinephrin	45
3.1.3.2. Agonist: ADP	46
3.1.4. INDUZIERTER THROMBOZYTENAGGREGATION IN PLÄTTCHENREICHEN PLASMA	49
3.1.4.1. Induktor: ADP	49
3.1.4.2. Induktor: Ristozetin	52
3.1.5. BLUTVOLUMENBESTIMMUNG	54
3.1.5.1. Durchflusszytometrie	54
3.1.5.2. Photometer	56
3.1.6. ZELLDIFFERENTIAL IM VOLLBLUT	59
3.1.7. INFUSIONSVOLUMEN	61
<b>3.2. IN-VITRO STUDIE</b>	<b>63</b>
3.2.1. IMPEDANZAGGREGOMETRIE NACH CARDINAL UND FLOWER	63
3.2.2. THROMBELASTOGRAPHIE	63
3.2.3. IN-VITRO BLUTUNGSTEST MIT ADP ALS AGONIST	65
3.2.4. INDUZIERTER THROMBOZYTENAGGREGATION IM PLÄTTCHENREICHEN PLASMA	65
3.2.4.1. Induktor: ADP	65
3.2.4.2. Induktor: Ristozetin	66
3.2.5. BLUTKÖRPERCHENSENKUNGSGESCHWINDIGKEIT	66
 <b>4. DISKUSSION</b>	 <b>68</b>
 <b>4.1. DISKUSSION DER ERGEBNISSE UND METHODEN</b>	 <b>68</b>
<b>4.2. SCHLUSSFOLGERUNGEN</b>	<b>82</b>
<b>4.3. ZUSAMMENFASSUNG</b>	<b>83</b>
<b>4.4. SUMMARY</b>	<b>85</b>
 <b>5. LITERATUR</b>	 <b>87</b>

## **6. ANHANG**

---

<b>6.1. VERZEICHNIS DER ABBILDUNGEN</b>	<b>95</b>
<b>6.2. VERZEICHNIS DER TABELLEN</b>	<b>96</b>
<b>6.3. VERZEICHNIS DER ABKÜRZUNGEN</b>	<b>98</b>
<b>6.4. VORLAGEN ZUR PATIENTENAUFKLÄRUNG</b>	<b>100</b>
<b>6.5. DANKSAGUNG</b>	<b>104</b>
<b>6.6. LEBENSLAUF</b>	<b>105</b>

## 1. Einleitung

Eine adäquate Volumensubstitution gehört zu einer der wichtigsten therapeutischen Maßnahmen bei der perioperativen Versorgung chirurgischer Patienten (Haisch 2001). Dafür stehen unter anderem kristalloide und kolloidale Infusionslösungen zur Volumenersatztherapie zur Verfügung.

Ein kontrovers diskutiertes Thema ist der Einfluss von kolloidalen Infusionslösungen auf die Hämostase. Diese ist neben der Gefäßfunktion auch von der Thrombozytenzahl, Thrombozytenfunktion und der plasmatischen Gerinnung abhängig. Diskutiert wird der Einfluss von kolloidalen Lösungen auf die Thrombozytenfunktion und die plasmatische Gerinnung.

Auf der einen Seite ist also eine ausreichende Volumensubstitution nötig, um die Aufrechterhaltung der Zirkulation und damit eine ausreichende Oxygenierung der Organe zu gewährleisten, auf der anderen Seite scheinen kolloidale Lösungen die Hämostase zu beeinflussen und im Falle einer Verletzung von Gefäßen den Austritt von Blut zu begünstigen.

### 1.1. Vollelektrolytlösungen

Vollelektrolytlösungen sind in der Elektrolytverteilung und Elektrolytkonzentration auf die extrazelluläre Flüssigkeit abgestimmt. Sie sind weitgehend isoton mit der Extrazellulärflüssigkeit und isoton und enthalten somit kein freies Wasser. Zu den handelsüblichen Vollelektrolytlösungen zählen die Ringer-Lösung und die isotone Kochsalzlösung (NaCl 0,9%).

Der Unterschied der beiden Lösungen liegt darin, dass die Ringer-Lösung einen Kalium- und einen Kalzium-Anteil hat, der ungefähr der Ionenkonzentration im Plasma entspricht, was wiederum zu einer Reduktion des Natriumgehaltes führt. Ringer-Lösung hat somit einen geringeren Gehalt an Natrium als NaCl 0,9%.

Der Einfluss von Vollelektrolytlösungen auf die Hämostase wird kontrovers diskutiert. Ng et al beschrieb einen Zustand erhöhter Koagulabilität nach Infusion isotoner Kochsalzlösung

(Ng, 2002), ebenso Ruttman et al (Ruttman, 1998). Es wurde angenommen, dass es durch die Hämodilution zu einer unproportionalen Reduktion von Gerinnungsinhibitoren, wie zum Beispiel der Antithrombin III-Konzentration im Plasma, komme (Ng, 2002). Die Abnahme an Gerinnungsfaktoren durch Hämodilution sei durch die hohe Reservekapazität des Gerinnungssystems von geringerer Bedeutung und wirke sich damit nicht auf die Hämostase aus (Ruttman, 1996).

Demgegenüber stand die Annahme, dass ein erniedrigter Hämatokrit als Folge der Hämodilution zu einer geringeren Blutviskosität und somit zu einer Abnahme der Blutgerinnung führe (Ouaknine-Orlando, 1999). Die erhöhte Blutungsneigung sei auf eine mechanische Störung im Blutfluss zurückzuführen. Die Kontaktmöglichkeiten der Blutplättchen mit nachfolgender Immobilisation und Aggregation am verletzten Endothel schienen verringert zu sein, wenn die Thrombozyten durch die verminderte Erythrozytenmasse im laminaren Blutstrom nicht ausreichend nah an die Gefäßwand gedrängt wurden und daher zu weit entfernt an dieser vorbeiflossen (Heim, 1999).

## **1.2. Kolloidale Lösungen**

Kolloide sind Substanzen mit einem hohen Molekulargewicht. Sie üben einen kolloidosmotischen Druck aus, verfügen über eine Bindungskapazität gegenüber Wasser, besitzen eine gewisse Eigenviskosität und können nicht frei durch Kapillarmembranen diffundieren. Die Summe dieser Eigenschaften bestimmt schließlich die Volumenwirksamkeit und die Verweildauer der Kolloide.

Die Kolloide werden nach ihrer Volumenwirksamkeit in zwei Gruppen unterteilt:

Plasmaexpander sind Kolloide mit einem höheren kolloidosmotischen Druck als der des Plasmas und bewirken damit einen Einstrom von Wasser aus dem Interstitium in die Gefäße. Der Volumeneffekt ist daher größer als es der zugeführten Menge entspricht. Zu den Plasmaexpandern gehören Hydroxyethylstärke, Dextrane und Humanalbumin 20%.

Plasmaersatzmittel sind Kolloide mit einem plasmaisotonen kolloidosmotischen Druck. Es kommt nicht zu einem Einstrom von Wasser aus dem Interstitium und der Volumeneffekt

entspricht dem der zugeführten Menge. Zu den Plasmaersatzmitteln gehören Gelatine und Humanalbumin 5%.

### 1.2.1. Hydroxyethylstärke

#### 1.2.1.1. Physikochemische Eigenschaften

Hydroxyethylstärke ist ein Syntheseprodukt aus Amylopektin der Wachsmaisstärke oder der Stärke anderer Getreidesorten. Wachsmaisstärke enthält zu 95% Amylopektin, welches aus verzweigten D-Glukoseeinheiten besteht, die  $\alpha$ -1,4-glykosidisch gebunden sind und an den Verzweigungsstellen  $\alpha$ -1,6-glykosidische Bindungen aufweisen (Warren, 1997; Boldt, 2004).

Es befinden sich eine Anzahl von unterschiedlichen Hydroxyethylstärke-Produkten auf dem Markt. Dabei werden folgende Merkmale bezüglich der Zusammensetzung und der physikochemischen Eigenschaften unterschieden:

- Kolloidkonzentration (3%, 6%, 10%)
- Mittleres Molekulargewicht (Mw) (40.000 – 450.000 Da)
- Molarer Substitutionsgrad (MS) (0,4; 0,5; 0,62; 0,7)
- C2/C6 ratio
- Mw der Bodenfraktion (Mw für die 10% der kleinsten Moleküle)
- Mw der Spitzenfraktion (Mw für die 10% der größten Moleküle)

Die Kolloidkonzentrationen (3%, 6%, 10%) nehmen großen Einfluss auf die initiale Volumenwirkung. Hyperonkotische Lösungen (10%) besitzen eine plasmaexpandierende Wirkung, indem sie zusätzliches Volumen intravasal binden. Niedermolekulare HES (3%) bindet kein zusätzliches freies Wasser und hat somit keine plasmaexpandierende Wirkung (Treib, 1997).

In Abhängigkeit vom Molekulargewicht (kDa) unterscheidet man monodisperse und polydisperse Kolloidpräparate. Während monodisperse Kolloide, wie zum Beispiel Albumin mit einem Molekulargewicht von 69 kDa, lediglich aus Molekülen mit dem gleichen

Molekulargewicht bestehen, enthalten polydisperse, wie zum Beispiel auch HES-Präparate, Moleküle mit verschiedenen Gewichten. Daher wird das Molekulargewicht auch als mittleres Molekulargewicht ( $M_w$ ) angegeben (Warren, 1997).

Die Molekulargewichtsverteilung einer HES-Lösung gibt an, wie die Gewichte der einzelnen Moleküle statistisch verteilt sind. Die Tatsache, dass in einer Lösung sehr viele kleine Moleküle, die sofort über die Niere ausgeschieden werden (Warren, 1997) oder sehr viele große Moleküle, die für die Kumulation im Plasma verantwortlich gemacht werden (Treib a, 1996), enthalten sind, zeigt, wie wichtig die Angabe über die Molekulargewichtsverteilung ist, um auf das pharmakologische Profil des HES-Präparates schließen zu können.

Durch Hydroxyethylierung werden Hydroxyethylgruppen an die C-Atome der Glukosemoleküle gebunden. Der molare Substitutionsgrad stellt das Verhältnis der Anzahl von Hydroxyethylgruppen zur Gesamtzahl der Glukosemoleküle dar und wird als Zahl zwischen 0 und 1 angegeben. Ein Substitutionsgrad von zum Beispiel 0,7 bedeutet, dass auf 10 Glukosemoleküle 7 Hydroxyethylgruppen kommen (Warren, 1997; Boldt, 2004). Hydroxyethylgruppen verzögern die Hydrolyse der Stärkekomponenten durch  $\alpha$ -Amylase und damit auch den Abbau und die Elimination aus dem Blut. Damit lässt sich der lange Volumeneffekt bei hochsubstituierten Stärken erklären (Treib a, 1996).

In Bezug auf den Abbau von Hydroxyethylstärke im Blut ist neben dem Substitutionsgrad auch die Position der Hydroxyethylgruppen von Bedeutung. Sie können an den C-Atomen 2, 3 oder am C-Atom 6 des Glukosemoleküls gebunden sein. Da die häufigste Bindung an den C-Atomen 2 und 6 stattfindet, spricht man auch von der C2/C6 ratio. Dieser Quotient gibt das Verhältnis der Gesamtzahl der an C2 gebundenen und der Gesamtzahl der an C6 gebundenen Hydroxyethylstärken an. Eine C2/C6 ratio von 13 bedeutet, dass eine Hydroxyethylierung an C2 dreizehnmal häufiger erfolgt als an C6.

Eine hohe C2/C6 ratio führt nach wiederholter HES-Gabe zu signifikanten Unterschieden in der Rheologie, Blutgerinnung und Elimination im Vergleich zu einer niedrigen C2/C6 ratio: Ein erhöhtes intravasculäres mittleres Molekulargewicht führt letztlich zu einer Erhöhung der Serumkonzentration und Plasmaviskosität und zu einer Reduzierung von Hämatokrit und Faktor VIII/von Willebrand-Komplex (Treib, 1995).

### 1.2.1.2. Metabolismus und Elimination

Die Elimination von Hydroxyethylstärke aus dem Blutkreislauf unterliegt zwei großen Mechanismen:

1. Renale Ausscheidung
2. Umverteilung: Aufnahme und zeitweilige Lagerung im Gewebe

Ein dritter Mechanismus, die Elimination über den Gastrointestinaltrakt, ist von untergeordneter Bedeutung (Lenz, 2000).

Die renale Ausscheidung, der wohl wichtigste Mechanismus, besteht aus zwei Phasen. Die erste Phase tritt unmittelbar nach Verabreichung von Hydroxyethylstärke auf. Polymere mit einem Molekulargewicht unter 59 kDa werden umgehend durch glomeruläre Filtration eliminiert. Die zweite Phase dauert länger und beginnt mit dem Metabolismus der Polymere durch  $\alpha$ -Amylase, deren erhöhte Aktivität nach HES-Gabe im Serum nachzuweisen ist. Es ist zu beachten, dass Hydroxyethylgruppen die enzymatische Spaltung verlangsamen. Weisen die Spaltprodukte der Hydroxyethylstärkepolymere ein Molekulargewicht von unter 72 kDa auf, können diese ebenfalls über die Niere ausgeschieden werden (Warren, 1997).

Die Umverteilung ins Gewebe ist der zweite Mechanismus. Nach 24 Stunden sind 23% der initial verabreichten Menge in den interstitiellen Raum übergetreten.

### 1.2.1.3. Nierenfunktion

Hydroxyethylstärkepolymere weisen eine gute Wasserlöslichkeit und insgesamt eine gute Nierenverträglichkeit auf und leisten bei Volumendefiziten im Blutkreislauf einen erheblichen Beitrag zur Vermeidung des prärenalen Nierenversagens. Bei hochsubstituierten HES-Präparaten und unzureichender Hydratation wird tubuläre HES-Speicherung im Sinne einer osmotischen Nephrose beschrieben, die sich negativ auf die Nierenfunktion auswirkt, daher sollte die Wertung HES-bedingter renaler Interaktionen nur unter Beachtung der einzelnen HES-Präparate und der infundierten Menge erfolgen (Vogt, 1998).

Die renale Elimination von HES-Präparaten ist abhängig vom Molekulargewicht und von der C2/C6 ratio. Bei einem Molekulargewicht von 120 kDa beschreibt Treib et al eine erschwerte Elimination dieser Makromoleküle. Dies hat eine Kumulation zur Folge, die zu einem Anstieg der Serumkonzentration von HES und zur Erhöhung der Plasmaviskosität führt.

Präparate mit einer hohen C2/C6 ratio werden langsamer gespalten und führen dadurch zu einem höheren Molekulargewicht in vivo. Sie werden folglich langsamer renal eliminiert. Treib et al verglich dabei zwei 200/0,5 Präparate, die sich in ihrer C2/C6 ratio unterschieden (Treib, 1997).

#### **1.2.1.4. Blutgerinnung**

Die Wirkung von Hydroxyethylstärke auf die Blutgerinnung ist ein kontrovers diskutiertes Thema. Einige Studien zeigten, dass HES keine Auswirkungen auf die Blutgerinnung hat (Claes, 1992; Gold, 1990; Munsch, 1988) oder lediglich Auswirkungen auf Laborparameter zeigte (Kupiotis, 1994; Strauss, 1985), andere Studien wiederum belegten klinisch signifikante Blutgerinnungsstörungen (Trumble, 1995; Boldt, 1993; Villarino, 1992).

In Studien, welche Blutgerinnungsstörungen unter HES-Gabe beschrieben, zeigten sich erniedrigte Serumkonzentrationen von der prokoagulatorischen Aktivität des Faktor VIII, von Willebrand-Faktor, Ristozetin-Cofaktor und Fibrinogen, eine Erhöhung der PTT und Blutungszeit und eine Störung der Thrombozytenfunktion (Baldassarre, 1997). Allerdings war auch hier eine differenzierte Beobachtung der einzelnen HES-Präparate und der infundierten Menge erforderlich.

Die Auswirkungen von HES auf die Blutgerinnung seien zum einen abhängig vom Molekulargewicht, von der molaren Substitution und der C2/C6 ratio (Entholzner, 2000). Es wurde ein Zusammenhang festgestellt zwischen Lösungen mit hohem Molekulargewicht, hoher molarer Substitution und einer hohen C2/C6 ratio und gehäuft auftretenden Blutungskomplikationen (Treib a, 1996 ). Zum anderen seien die Auswirkungen von der infundierten Menge abhängig. Koagulopathien wurden bei HES-Gabe beobachtet, die ein Infusionsvolumen von  $20 \text{ ml} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$  überschritten (Baldassarre, 1997).

Einige Hypothesen stützten die Behauptung, dass verschiedene Gerinnungsfaktoren durch die verzweigten Polysaccharide gefällt würden und somit nicht mehr für die Gerinnungskaskade zur Verfügung stünden (Treib, 1995). Andere nahmen an, HES bilde zusammen mit Faktor VIII und Fibrinogen einen Komplex und sei weiterhin für eine erhöhte Aktivität von



Thrombin verantwortlich, das an der Umwandlung von Fibrinogen zu Fibrin beteiligt ist und somit nicht mehr für die physiologische Gerinnung zur Verfügung stünde. Zusätzlich könne das Fibringerinnsel viel leichter lysiert werden (Warren, 1997)

Die empfohlene maximale Tagesdosis sowohl für HES 6% (200/0,5) als auch für HES 6% (130/0,4) liegt bei  $33 \text{ ml} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ . Die Empfehlungen einer Dosisbegrenzung wurden durch die Interaktion mit den Funktionen der plasmatischen und der thrombozytären Gerinnung sowie der Fibrinolyse begründet. In der Literatur wurde vereinzelt über Blutungskomplikationen unter HES-Gabe berichtet (Cully, 1987; Damon, 1987; Villarino, 1992).

In Bezug auf die Thrombozytenfunktion reduziere HES die Plättchenadhäsion. Hierzu gibt es unterschiedliche Hypothesen:

- Die Konzentration des von Willebrand-Faktors (vWF), der als Brücke für die Adhäsion zwischen Thrombozyt und Gefäßendothel dient, sinke. Dieser Effekt trete erst Stunden nach der HES-Infusion auf und sei nicht in-vitro reproduzierbar (Strauss, 1988). Dies lege nahe, dass die Freisetzung von vWF aus dem Endothel behindert sei.
- HES ummantele die Thrombozytenmembran („coating effect“) und mindere damit die Verfügbarkeit von Rezeptoren, die für die Adhäsion nötig sind.
- Untersuchungen auf molekularer Ebene ergaben eine reduzierte Expression des Glykoprotein (GP) IIb-IIIa Komplexes, der für die Bindung von Fibrinogen nötig ist, auf der Thrombozytenmembran. Mögliche Erklärungen dafür seien ein direkter plättcheninhibitorischer Effekt von HES oder eine Veränderung der Thrombozytenmembran, welche die Expression von GP IIb-IIIa verhindere. Eine Erklärung für reduzierte Thrombozytenadhäsionsfähigkeit ist dies jedoch nicht, denn es fand sich keine Veränderung in der Expression des GP Ib, dem Rezeptor für den von Willebrand -Faktor (Stögermüller, 2000).

### **1.3. Angewandte Methoden**

Die Thrombozytenfunktion in der Hämostase wird von der Blutungszeit erfasst, daher ist die Blutungszeit bei Patienten mit Thrombozytopenie oder Thrombozytenfunktionsstörungen verlängert. Die Blutungszeit stellt die wichtigste Methode zur Erfassung thrombozytärer Funktionsstörungen in der klinischen Praxis dar.

In dieser Arbeit standen vor allem funktionelle Messtechniken im Vordergrund der Diagnostik. Diese Testverfahren maßen die Aggregation und Adhäsion und spiegelten daher nicht den aktuellen Funktionszustand der Thrombozyten wider, sondern beschrieben Defizite des thrombozytären Hämostasepotenzials.

Die Impedanzaggregometrie nach CARDINAL und FLOWER (Cardinal, 1980) im Vollblut maß die Thrombozytenaggregation. Sie bot den Vorteil der Anwesenheit von Erythrozyten, Leukozyten und anderen Blutkomponenten, die Einfluss auf das Verhalten der Thrombozyten bei der Aggregation hatten (Diodati JG, 1992). Bei dieser Methode wurde die Thrombozytenaggregation mittels aggregationsfördernden Substanzen induziert. Zur Erfassung der globalen Gerinnung, die neben der Thrombozytenfunktion auch die plasmatische Gerinnung und die Fibrinolyse erfasste, fand die Thrombelastographie ihre Anwendung. Sie etablierte sich zunehmend während Lebertransplantationen, großen herzchirurgischen Eingriffen und bei präeklampsischen Patientinnen (Mahla, 2001). Die primäre thrombozytäre Hämostase wurde durch den in-vitro Blutungstest erfasst, ein Verfahren, das seit 1995 zur Verfügung steht (Kundu, 1995). Bei dieser Methode wurden zwei Patronen, Kollagen/Epinephrin (CEPI) und Kollagen/ADP (CADP), verwendet. CEPI diente in erster Linie dazu, Thrombozytenfunktionsstörungen zu entdecken, und CADP half herauszufinden, ob auffällige Ergebnisse unter CEPI durch Acetylsalicylsäure bedingt waren (Mammen, 1995). Neben den oben genannten Methoden der induzierten Thrombozytenaggregation im Vollblut, stand zur Prüfung der Thrombozytenfunktion im plättchenreichen Plasma die turbidometrische Messung durch Induktion der Plättchenaggregation nach BORN zur Verfügung.

Die Bestimmung des Erythrozytenvolumens erfolgte mittels Durchflusszytometrie und Natriumfluorescein, einem nicht radioaktiven Marker (Lauermann, 1994). In der Messung des

---

Plasmavolumens fand die Indikatorverdünnungsmethode mit Indocyaningrün ihre Anwendung. Durch die Elimination des Indikators konnte die optische Dichte des Plasmas im Photometer gemessen werden.

---

### **1.4. Zielsetzung und Fragestellung**

Ziel der Arbeit war der Vergleich von zwei HES-Präparationen (HES 6%, Mw 200/0,5; HES 6%, Mw 130/0,4). Es wurden deren Einfluss auf die Thrombozytenfunktion und die Thrombozytenzahl sowie auf den intra- und postoperativen Blutverlust untersucht. Ringer-Lösung bzw. NaCl 0,9% dienten als Kontrolle.

Dabei sollte geklärt werden, ob HES 6% (130/0,4) durch den reduzierten Substitutionsgrad, einer veränderten C2/C6 ratio und durch eine engere Molekulargewichtsverteilung einen günstigeren Einfluss auf die Aktivität und die Zahl der Thrombozyten hat als HES 6% (200/0,5). Dafür standen vor allem die funktionellen Messtechniken zur Untersuchung der Thrombozytenfunktion im Vordergrund.

Den intra- und postoperativen Blutverlust in der klinischen Studie quantifizierten wir durch Messung des zirkulierenden Blutvolumens. Hier fanden die Methoden der durchflusszytometrischen Messung fluoresceinmarkierter Erythrozyten und die Bestimmung des Plasmavolumens mittels Indocyaningrün ihre Anwendung.

Die Wirkung von HES auf die Thrombozytenaktivität sollte sowohl im Gesamtorganismus (klinische Studie) als auch isoliert und damit ohne Einfluss der im Organismus stattfindenden Vorgänge (in-vitro Studie) untersucht werden.

Unsere klinischen Untersuchungen beschränkten sich auf den Einsatz bei radikalen Prostatektomien und Adenomektomien; in-vitro bestand das Kollektiv aus gesunden männlichen Probanden.

---

## 2. Methodik und Material

### 2.1. Studienvorstellung

#### 2.1.1. Studienkollektive

Wir untersuchten die Auswirkungen von Hydroxyethylstärke unterschiedlichen Molekulargewichts auf Thrombozytenfunktionen. Wir wählten dazu zwei Kollektive:

1. In-vitro Studie (Probandenkollektiv)
2. Klinische Studie (Patientenkollektiv)

##### In-vitro Studie

Das Probandenkollektiv bestand aus zwölf männlichen, gesunden Probanden, deren mündliche Einwilligung über eine einmalige Entnahme von 72 ml Blut vorlag. Aus der Blutprobe jedes Probanden wurden drei Gruppen gebildet und mit PPP auf einen Hämatokrit von 0,3 verdünnt. Anschließend wurden sie mit jeweils 6% HES (200/0,5), 6% HES (130/0,4) und isotoner Kochsalzlösung im Verhältnis 0,5 ml Infusionslösung pro 1 ml Blut bei 37° C 30 Minuten inkubiert. Nachfolgend erfolgten die Thrombozytenfunktionstests und die BSG-Messung.

##### Klinische Studie

Das Patientenkollektiv bestand aus 18 männlichen urologischen Patienten, die über die Studie aufgeklärt wurden und deren schriftliche Einwilligung in die Studie am Tag vor der Operation vorlag. Die Patienten wurden drei Gruppen (je 6 Patienten) zugeteilt. Die Gruppen erhielten entweder 6% HES 200/0,5 (**HES**-Gruppe) oder 6% HES 130/0,4 (**Voluven**-Gruppe) oder Ringer-Lösung (**Ringer**-Gruppe). Wir untersuchten prospektiv, doppelblind und randomisiert HES 200 gegen HES 130. Offen randomisiert war die Kontrollgruppe mit Ringer-Lösung, die zu keinem Zeitpunkt HES erhalten hatte. Die Ein- und Ausschlusskriterien wurden, wie in Tabelle 1 beschrieben, eingehalten.

Die Studie wurde von der Ethikkommission der Justus-Liebig-Universität Gießen genehmigt.

**Tabelle 1 Ein- und Ausschlusskriterien**

	Einschlusskriterien	Ausschlusskriterien
Probandenkollektiv	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Männlich</li> <li>• &gt; 18 Jahre</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Gerinnungsstörung</li> <li>• Thrombozytopenie &lt; 150.000/<math>\mu</math>l</li> <li>• Medikamenteneinnahme innerhalb der letzten 10 Tage</li> </ul>
Patientenkollektiv	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Radikale Prostatektomie</li> <li>• Adenomektomie</li> <li>• Kombination ITN &amp; PDA</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Gerinnungsstörung</li> <li>• Thrombozytopenie &lt; 150.000/<math>\mu</math>l</li> <li>• Medikamenteneinnahme innerhalb der letzten 10 Tage</li> </ul>

### 2.1.2. Zeitlicher Ablauf der klinischen Studie

Der Messzeitpunkt 0 kennzeichnet lediglich die Blutentnahme zur Markierung der Erythrozyten mit Fluorescein für die Messzeitpunkte 1 und 2. Diese wurde möglichst zeitnah jeweils vor den einzelnen Messzeitpunkten vorgenommen, um eine ausreichende Fluoreszenz der markierten Erythrozyten zu gewährleisten. Für Messzeitpunkt 3 wurde das Blut zur Markierung der Erythrozyten kurz vorher abgenommen. Wir entnahmen pro Messzeitpunkt 10 ml Blut, markierten dieses mit Fluorescein und reinjizierten anschließend die markierten Erythrozyten.

Messzeitpunkt 1 erfolgte nach Narkoseeinleitung. Wir entnahmen 7 ml Blut für Messungen im Vollblut, 7 ml für Messungen im plättchenreichen Plasma (PRP), 1.8 ml für den Nullwert der Plasmavolumenbestimmung mit Indocyaningrün (ICG) und 1.8 ml für die Bestimmung des Gesamterythrozytenvolumens am Durchflusszytometer. Anschließend reinjizierten wir die markierten Erythrozyten (Messzeitpunkt 0) und injizierten ICG. Exakt 2, 3 und 4 Minuten nach ICG-Injektion entnahmen wir jeweils 1.8 ml Blut für die Plasmavolumenbestimmung und zum Schluss weitere 1.8 ml für die Bestimmung des Gesamterythrozytenvolumens am Durchflusszytometer.

Im Anschluss erfolgten unverzüglich die Thrombozytenfunktionstests, die Erythrozytenvolumenbestimmung und die Aufbereitung und Lagerung der Proben für die Plasmavolumenbestimmung.

Nach *Messzeitpunkt 1* wurde 1 Liter des entsprechenden HES-Präparates (in der Kontrollgruppe: 2 Liter Ringer) schnell infundiert. Daraufhin erfolgte *Messzeitpunkt 2*. Die Blutentnahme war gemäß Messzeitpunkt 1.

*Messzeitpunkt 3* erfolgte 4 Stunden nach Hautnaht. Auch hier erfolgte die Blutentnahme gemäß Messzeitpunkt 1.

### 2.1.3. Blutentnahme und Aufbereitung

Die Blutentnahmen erfolgten standardisiert in Abhängigkeit von Studienkollektiv (Tabelle 3) und Messzeitpunkt (Tabelle 2).

Bei der Venenpunktion wurde ein Staudruck von 50 mm Hg verwandt und mit einer Blutdruckmanschette und geeichtem Manometer überprüft. Die Zusammensetzungen der Antikoagulantien und Stabilisatoren für die Blutproben sind Tabelle 4 zu entnehmen.

**Tabelle 2** Beschreibung der Messzeitpunkte

	Beschreibung
Messzeitpunkt 0	zeitnah nach dem Legen der ersten Venenverweilkanüle
Messzeitpunkt 1	nach Narkoseeinleitung
Messzeitpunkt 2	nach Messzeitpunkt 1 und Infusion von entweder 1 Liter HES oder 2 Liter Ringer-Lösung (präoperativ)
Messzeitpunkt 3	4 Stunden nach Operationsende (Naht)

**Tabelle 3      Standardisierte Blutentnahme**

Studienkollektiv	Messzeitpunkt	Entnahmestelle	Kanüle
Patientenkollektiv	Messzeitpunkt 0	Armvenen	16G Teflonkanüle (Vasocan®, Fa.Braun, Melsungen)
Patientenkollektiv	Messzeitpunkt 1,2 und 3	Arteria radialis	18G Teflonkanüle (Vasocan®, Fa.Braun, Melsungen)
Probandenkollektiv		Armvenen	21G Flügelkanüle (Wing- Flo®, Fa.Braun, Melsungen)



**Tabelle 4      Antikoagulantien und Stabilisatoren**

Untersuchungsmethode	Antikoagulantien und Stabilisatoren	Volumen-verhältnis*	Zentrifuga-tionsbedingungen			Zielkompo-nente
			[g]	[min]	<sup>1</sup>	
Impedanz-aggregometrie	Trinatriumcitrat 20g/l; Glukose 20g/l	1:7	-	-	-	Vollblut
Turbidome-trische Aggre-gometrie	Trinatriumcitrat 20g/l; Glukose 20g/l	1:7	1000	15	0	PRP
			3000	10	+	PPP
Thrombelasto-graphie	Trinatriumcitrat 20g/l; Glukose 20g/l	1:7	-	-	-	Vollblut
Platelet Function Ana-lyzer (PFA)	Trinatriumcitrat 20g/l; Glukose 20g/l	1:7	-	-	-	Vollblut
Blutbild (klinische Studie)	EDTA	-	-	-	0	Vollblut
Blutbild für RCV-Messung	Heparin	1:100	5000	5	+	Erythrozyten
Blutbild (in-vitro Studie)	Trinatriumcitrat 20g/l; Glukose 20g/l	1,5:10	-	-	0	Vollblut
Photometri-sche Bestimmung	EDTA		3000	10	+	Plasma
Blutkörper-chensenkungs-geschwindig-keit	Trinatriumcitrat 20g/l; Glukose 20g/l	1:7	-	-	0	Vollblut
Durchfluss-zytometrie	Heparin	1:100	5000	5	+	Erythrozyten

\* Volumenanteil der Antikoagulantien und des Stabilisators zum Gesamtvolumen

<sup>1</sup> mit Bremse (+); ohne Bremse (0)

## **2.2. Induzierte Thrombozytenaggregation im Vollblut**

### **2.2.1. Impedanzaggregometrie nach CARDINAL und FLOWER**

#### **2.2.1.1. Testprinzip**

CARDINAL und FLOWER beschrieben die Impedanzmethode, um die Thrombozytenaggregation im Vollblut zu messen (Cardinal, 1980).

Das Gerät bestand aus einer Küvette, in der die Zitratblutprobe mit einem Magnetrührer bewegt wurde. In der Probe befanden sich zwei parallel angeordnete halbkreisförmige Platinelektroden, über die ein Wechselstrom floss.

Initial bildete sich eine einlagige Schicht von Thrombozyten auf den Elektroden. Wurde nun eine aggregationsfördernde Substanz, Aggreganz, hinzugegeben, aggregierten die Thrombozyten der Zitratblutprobe, und der elektrische Wechselstromwiderstand, die Impedanz, stieg. Der Impedanzwechsel wurde als Kurve aufgezeichnet, das Ausmaß der Aggregation in Ohm angegeben.

#### **2.2.1.2. Durchführung**

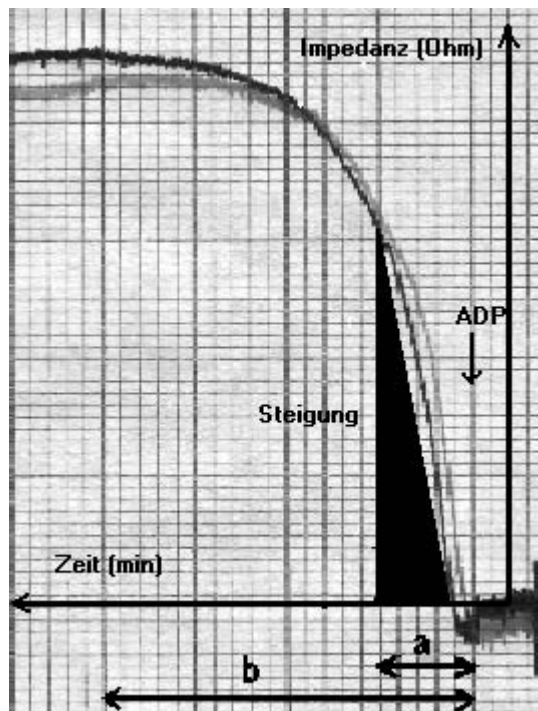
Unverzüglich nach Blutabnahme verdünnten wir 600 µl Zitratblut mit 300 µl 0,9%iger Kochsalzlösung, die auf 37° C temperiert war. Daraufhin wurde die Probe 10 Minuten auf 37°C inkubiert, der Magnetrührer auf 1000 Umdrehungen pro Minute gestellt und die Impedanz mit einem Schreiber aufgezeichnet.

Man beobachtete zuerst eine Abnahme der Impedanz, was durch den Temperaturanstieg der Probe zu erklären war. Nachdem sich ein „steady-state“ eingestellt hatte, gaben wir 10 µl Adenosindiphosphat (ADP) als Aggreganz hinzu.

Zwei Minuten nach Zugabe von ADP wurde die Impedanz bestimmt und als Steigung berechnet (Dimension:  $\Omega/\text{min}$ ). Als maximale Impedanz bezeichnete man den innerhalb von zwanzig Minuten erreichten Höchstwert (Abbildung 1).

Die Messungen erfolgten als Doppelbestimmung.

Die verwendeten Materialien sind in Tabelle 5 aufgeführt.



**Abbildung 1** Originalregistrierung einer Doppelbestimmung der Impedanzaggregation. Pfeil a kennzeichnet die Strecke zwischen Zugabe von ADP und der Impedanz, die als Steigung berechnet wird. Pfeil b kennzeichnet den Höchstwert.

## 2.2.1.3. Material

Tabelle 5      Material für Impedanzaggregometrie

	Artikelbezeichnung	Unternehmen	Artikelnummer
Aggregometer und Zubehör	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Aggregometer VS 540</li> <li>• Elektrodenpaar (abgeglichen)</li> </ul>	NOBIS, Endingen NOBIS, Endingen	070 236
Schreiber und Zubehör	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 2-Kanalschreiber (Modell 707)</li> <li>• Stift kurz, rot für Kanal 1</li> <li>• Stift lang, grün für Kanal 2</li> </ul>	NOBIS, Endingen NOBIS, Endingen NOBIS, Endingen	070 172 070 208 070 209
Blutentnahme und Stabilisator	<ul style="list-style-type: none"> <li>• KABEVETTE® 10 ml</li> <li>• Glukose 5% 100 ml</li> <li>• Natriumzitat 4% 250 ml</li> </ul>	KABE Labortechnik, Nümbrecht Braun, Melsungen Haemonetics, Massachusetts	S515 N10  6714567.02.01
Küvetten	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Polystyrolküvetten (1000 µl)</li> <li>• Rührstäbchen für 1000 µl-Küvetten</li> </ul>	NOBIS, Endingen  NOBIS, Endingen	070 181  070 187
Pipetten	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Eppendorf Varipette® 4810, 200 – 1000 µl</li> <li>• Pipettenspitzen 2.5 µl</li> <li>• Transferpettor 10 µl</li> <li>• Transferpettor-caps, orange</li> </ul>	Eppendorf, Hamburg  Eppendorf, Hamburg Brand, Wertheim Brand, Wertheim	4810 000.029   701 807
Reaktionslösungen	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Chrono-Par-ADP (1 mmol)</li> </ul>	NOBIS, Endingen	070 212

## 2.2.2. Thrombelastographie

### 2.2.2.1. Testprinzip

Die Thrombelastographie (TEG) ist einer der ersten globalen Gerinnungstest, erstmals 1948 vorgestellt von Hartert.

Sowohl die plasmatische Gerinnung als auch die Thrombozytenfunktion und die Fibrinolyse werden gleichzeitig erfasst (Dietrich, 1998).

Durch Zugabe von  $\text{CaCl}_2$  zu Zitratblut wurde die Gerinnung ausgelöst und zwischen einer pendelnd rotierenden Küvette und einem Metallkern kontinuierlich die Elastizität des Blutgerinnsels gemessen.

Die signifikanten Größen eines Thrombelastogrammes sind die Reaktionszeit  $r$ , die Gerinnselbildungszeit  $r+k$  und die maximale Amplitude  $MA$ .

Die Reaktionszeit kennzeichnet den Beginn der Gerinnselbildung und gilt als verstrichen, wenn der Ausschlag des Schreibzeigers 1mm auf dem Registrierpapier beträgt.

Die Gerinnselbildungszeit ist die Zeit, die vom Ende der Reaktionszeit bis zum Erreichen einer Amplitude = 20 mm verstreicht (Abbildung 2).

Aus der maximalen Amplitude wird das Elastizitätsmodul  $m_e$  berechnet:

$$m_e = 100 \cdot MA / (100 - MA)$$

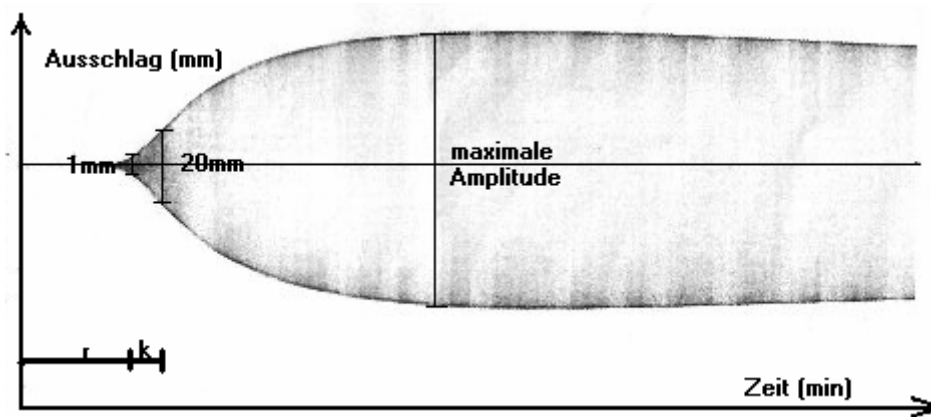


Abbildung 2 Originalregistrierung eines Thrombelastogrammes. Reaktionszeit  $r$ , Gerinnselbildungszeit  $r+k$ , maximale Amplitude. Weitere Erläuterungen siehe Text.

#### 2.2.2.2. Durchführung

Nach der Blutentnahme begannen wir innerhalb von 30-60 Minuten mit der Durchführung des Tests.

700  $\mu\text{l}$  Zitratblut wurden mit 140  $\mu\text{l}$   $\text{CaCl}_2$  (100mmol/l) versetzt und in einer Eppendorf-Küvette gut durchmischt. Dann wurden jeweils 360 $\mu\text{l}$  in die zwei Küvetten des Thrombelastographen D (Hellige, Freiburg) gegeben, die Metallstempel gesenkt und mit der Aufzeichnung begonnen.

Die Messungen erfolgten als Doppelbestimmung.

Die verwendeten Materialien sind in Tabelle 6 aufgeführt.

### 2.2.2.3. Material

**Tabelle 6      Material für Thrombelastographie**

	Artikelbezeichnung	Unternehmen	Artikelnummer
Thrombelastograph und Zubehör	• Thrombelastograph D	Hellige, Freiburg	104 011 01
	• Küvette	Hellige, Freiburg	384 010 02
	• Paraffinöl DAB6 50 ml	Hellige, Freiburg	302 895 00
Blutentnahme und Stabilisator	<ul style="list-style-type: none"> <li>• KABEVETTE® 10 ml</li> <li>• Glukose 5% 100 ml</li> <li>• Natriumzitrat 4% 250 ml</li> </ul>	KABE Labortechnik, Nümbrecht Braun, Melsungen Haemonetics, Massachusetts	S515 N10  6714567.02.01
Pipetten	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Eppendorf Varipette® 4810, 200 – 1000 µl</li> <li>• Pipettenspitzen 2.5 µl</li> <li>• Transferpettor 10 µl</li> <li>• Transferpettor-caps, orange</li> </ul>	Eppendorf, Hamburg  Eppendorf, Hamburg Brand, Wertheim Brand, Wertheim	4810 000.029   701 807
Reaktionslösungen	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Kalziumchlorid 0.1 mmol</li> </ul>	NOBIS, Endingen	070 212

### 2.2.3. In-vitro Blutungstest

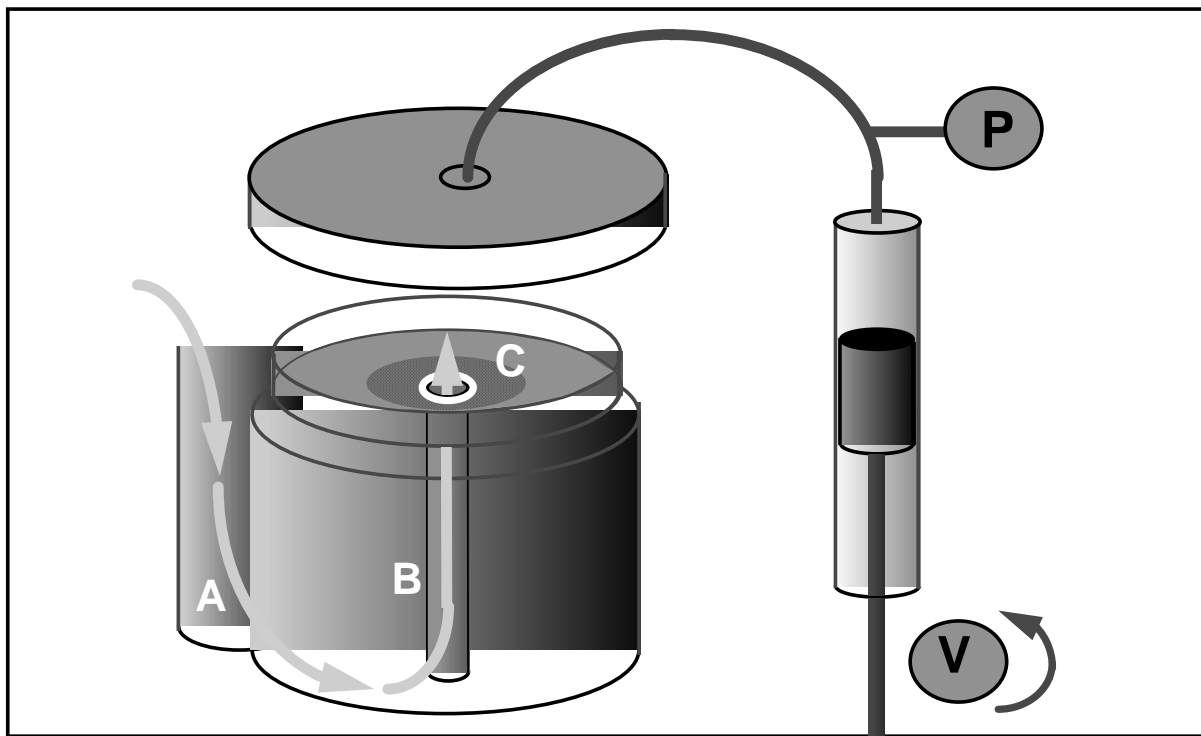
#### 2.2.3.1. Testprinzip

Der in-vitro Blutungstest (PFA<sup>®</sup>-100, Dade, Miami, USA) ist eine halbautomatische Methode, die seit 1997 zur Messung der Thrombozytenfunktion zur Verfügung steht. Er simuliert in-vitro die Scherkräfte, denen Thrombozyten in einem verletzten Blutgefäß ausgesetzt sind.

Dabei wurde die Blutprobe im PFA<sup>®</sup>-100 drei Minuten bei 38,5°C vorgewärmt. Sodann wurde die Blutprobe durch die Stahlkapillare und die Membranöffnung mit einem konstanten Unterdruck von -40 mbar angesaugt (Abbildung 3), der dem normalen Kapillardruck entsprach. Die Membran war sowohl mit Kollagen als auch einem Agonisten (ADP oder Epinephrin) beschichtet. Lagerten sich die Thrombozyten an das Kollagen an, begann die

Freisetzung von Agonisten, was die Thrombozyten zur Expression von Glykoprotein-IIb-IIIa-Rezeptoren und zur Aggregatbildung anregte.

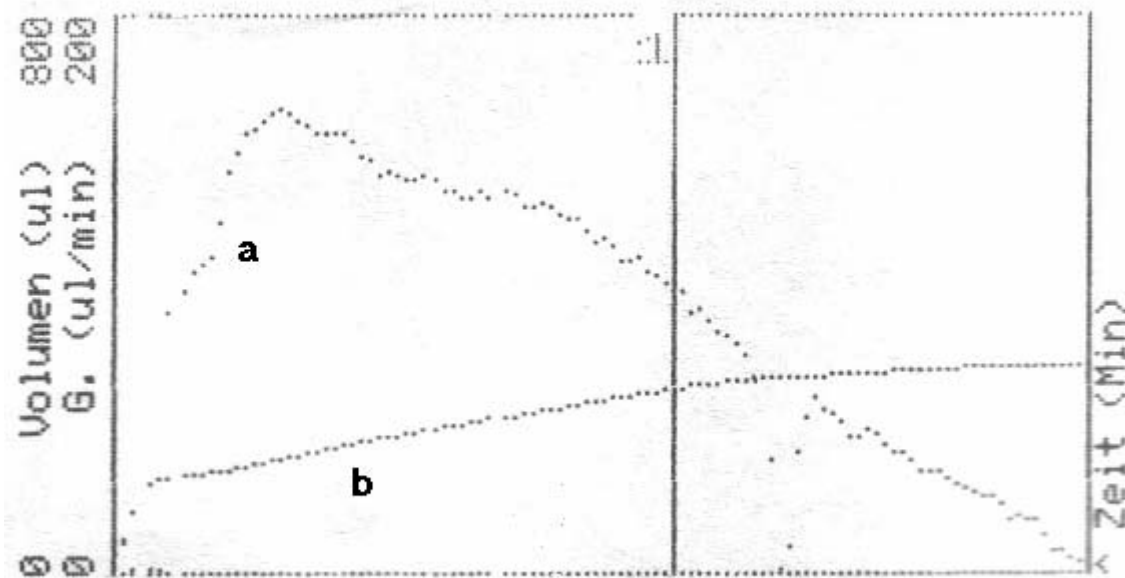
Während dieses Prozesses wurde ein Plättchenthrombus gebildet, wodurch sich die Öffnung immer mehr verengte.



**Abbildung 3 Funktionsprinzip des in-vitro Blutungstests.** Zitratblut wird in ein Reservoir (A) gegeben. Sodann wird die Blutprobe mit konstantem Unterdruck (Manometer P) durch eine Stahlkapillare (B) zu einer Kollagen- und Adrenalin-beschichteten Nitrozellulose-Membran (C) gesaugt. Eine zentrale Öffnung wird durch Thrombozytenaggregation und -adhäsion verschlossen. Hierdurch nimmt der Blutfluss ab (Pumpe mit Volumenmessung V). Bei völligem Verschluss der Öffnung wird der Test beendet. Der Zeitpunkt wird als "Verschlusszeit" registriert.

Das Gerät registrierte das angesaugte Volumen in Abhängigkeit von der Zeit. Das Kurvenintegral entsprach dem Fluss. Den Zeitpunkt, an dem kein Fluss mehr registriert werden konnte, weil die Öffnung durch den Plättchenthrombus verschlossen wurde, bezeichnete man als Okklusionszeit, die wichtigste Größe des Tests. Daneben wurden der initiale Fluss bei Beginn der Messung und das angesaugte Blutungsvolumen aufgezeichnet (Abbildung 4) (Herstellerangaben; Firma Dade, Miami, USA).





**Abbildung 4** Originalregistrierung eines in-vitro Blutungstests. Kurve a: Blutfluss; Kurve b: Volumen. Sinkt der Blutfluss auf Null, ist die Okklusionszeit erreicht. Das Volumen zu diesem Zeitpunkt bezeichnet man als Blutungsvolumen.

#### 2.2.3.2. Durchführung

Wir gaben 0,75 ml Zitratblut in eine Testküvette, die aus einem Polypropylen-Reservoir, einer Stahlkapillare (Durchmesser 200  $\mu\text{m}$ , Länge 30 mm) und einer Nitrozellulose-Membran bestand. Die Messungen erfolgten sowohl mit Kollagen/ADP- als auch Kollagen/Epinephrin-beschichteten Testküvetten.

Die Messungen erfolgten als Doppelbestimmung.

Die verwendeten Materialien sind in Tabelle 7 aufgeführt.

### 2.2.3.3. Material

**Tabelle 7      Material für in-vitro Blutungstest**

	Artikelbezeichnung	Unternehmen	Artikelnummer
Analysengerät für Thrombozytenfunktionstests	<ul style="list-style-type: none"> <li>PFA-100</li> </ul>	DADE, Miami	
Messzellen	<ul style="list-style-type: none"> <li>DADE®PFA Collagen/EPI Test Cartridge</li> </ul>	Dade Behring, Marburg	B 4170-20
	<ul style="list-style-type: none"> <li>DADE®PFA Collagen/ADP Test Cartridge</li> </ul>	Dade Behring, Marburg	B 4170-21
Blutentnahme und Stabilisator	<ul style="list-style-type: none"> <li>KABEVETTE® 10 ml</li> </ul>	KABE Labortechnik, Nümbrecht	S515 N10
	<ul style="list-style-type: none"> <li>Glukose 5% 100 ml</li> </ul>	Braun, Melsungen	
	<ul style="list-style-type: none"> <li>Natriumzitrat 4% 250 ml</li> </ul>	Haemonetics, Massachusetts	6714567.02.01
Pipetten	<ul style="list-style-type: none"> <li>Eppendorf Varipette® 4810, 200 – 1000 µl</li> </ul>	Eppendorf, Hamburg	4810 000.029
	<ul style="list-style-type: none"> <li>Pipettenspitzen 2.5 µl</li> </ul>	Eppendorf, Hamburg	

## 2.3.    *Induzierte Thrombozytenaggregation im plättchenreichen Plasma*

### 2.3.1. Testprinzip:

Die 1962 von BORN vorgestellte optische Messung der Thrombozytenfunktion zählt zu den am häufigsten angewandten Verfahren zur Untersuchung der Thrombozytenfunktion (Born, 1962).

Die Thrombozytenaggregation wurde hierbei mit Hilfe von Infrarotlicht im plättchenreichen Plasma (PRP) und plättchenarmen Plasma (PPP) gemessen.

Da das PRP durch Zugabe eines Rührstäbchens kontinuierlich gerührt wurde, ließen die aufgewirbelten Plättchen nur einen Teil des Lichtstrahls durch die Probe. Die optische Dichte erfassten wir mit einem Schreiber. PRP diente dabei als 0%-Wert.

PPP desselben Patienten, das sich in einer zweiten Messstelle befand, wies keine Trübung durch Thrombozyten auf und repräsentiert den 100%-Wert.

Wurde die Aggregation der Plättchen im PRP stimuliert, so dass sich größere Aggregate bildeten, gelangte mehr Licht durch die Probe.

Die prozentuale Zunahme der Aggregation wurde von einem Schreiber gegen die Zeit als Kurve aufgezeichnet.

### **2.3.2. Durchführung**

#### Messung mit ADP:

450 µl PRP wurden 5 Minuten auf 37°C erwärmt, dabei mittels eines Magnetrührers mit 1000 g/min bewegt und sodann mit 10 µl Adenosindiphosphat versetzt. Die Trübungsabnahme wurde mittels eines Infrarotstrahles im Aggregometer (VS 540, Chronolog; Havertown, USA) registriert. PPP diente dabei als Referenzwert. Turbidometrische Anstiegssteilheit ("Slope") und maximale Aggregation wurden bestimmt.

Die Messung erfolgte als Doppelbestimmung.

#### Messung mit Ristozetin:

450 µl PRP wurden 5 Minuten auf 37°C erwärmt und dabei mittels eines Magnetrührers mit 1000 g/min bewegt und sodann mit 2 µl Ristozetin versetzt.

Nach jeweils einer Minute gaben wir weitere 1µl Ristozetin dazu, bis die Trübungsabnahme 33% des Ausgangswertes überschritten hatte.

Danach wurden turbidometrische Anstiegssteilheit und maximale Aggregation bestimmt.

Die Messung erfolgte als Doppelbestimmung.

Die verwendeten Materialien sind in Tabelle 8 aufgeführt.

### 2.3.3. Material

**Tabelle 8      Material für induzierte Thrombozytenaggregation**

	Artikelbezeichnung	Unternehmen	Artikelnummer
Aggregometer und Zubehör	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Aggregometer VS 540</li> <li>• Elektrodenpaar (abgeglichen)</li> </ul>	NOBIS, Endingen NOBIS, Endingen	070 236
Schreiber und Zubehör	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 2-Kanalschreiber (Modell 707)</li> <li>• Stift kurz, rot für Kanal 1</li> <li>• Stift lang, grün für Kanal 2</li> </ul>	NOBIS, Endingen NOBIS, Endingen NOBIS, Endingen	070 172 070 208 070 209
Blutentnahme und Stabilisator	<ul style="list-style-type: none"> <li>• KABEVETTE® 10 ml</li> <li>• Glukose 5% 100 ml</li> <li>• Natriumzitrat 4% 250 ml</li> </ul>	KABE Labortechnik, Nümbrecht Braun, Melsungen Haemonetics, Massachusetts	S515 N10 6714567.02.01
Küvetten	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Polystyrolküvetten (1000 µl)</li> <li>• Rührstäbchen für 1000 µl-Küvetten</li> </ul>	NOBIS, Endingen NOBIS, Endingen	070 181 070 187
Pipetten	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Eppendorf Varipette® 4810, 200 – 1000 µl</li> <li>• Pipettenspitzen 2.5 µl</li> <li>• Transferpettor 10 µl</li> <li>• Transferpettor-caps, orange</li> </ul>	Eppendorf, Hamburg Eppendorf, Hamburg Brand, Wertheim Brand, Wertheim	4810 000.029 701 807
Reaktionslösungen	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Chrono-Par-ADP (1 mmol)</li> <li>• Chrono-Par-Ristozetin</li> <li>• (125 mg/ml)</li> </ul>	NOBIS, Endingen NOBIS, Endingen	070 212 070 216

## **2.4. Blutvolumen-Bestimmung**

### **2.4.1. Erythrozytenvolumen mit der Durchflusszytometrie**

#### **2.4.1.1. Testprinzip**

In der Durchflusszytometrie werden verschiedene physikalische und chemische Eigenschaften einzelner Zellen oder Partikel simultan gemessen, wobei sie hintereinander in einem Flüssigkeitsstrom angeordnet einzeln untersucht werden. Es werden relative Zellgröße, Granularität sowie drei verschiedene Fluoreszenzintensitäten ermittelt.

#### **2.4.1.2. Durchführung**

##### **2.4.1.2.1. Herstellung der Erythrozytensuspension mit Natriumfluorescein**

Zeitpunkt der Blutentnahme siehe 2.1.2. „Zeitlicher Ablauf der klinischen Studie“

Das Heparinblut (10 ml) wurde zentrifugiert, das Plasma abpipettiert und verworfen.

Die Erythrozyten versetzten wir mit 10 Tropfen (bei Messzeitpunkt 1 und 3) oder 15 Tropfen (bei Messzeitpunkt 2) Fluorescein (Fluorescein-Lösung 10%, Alcon Pharma, Freiburg) und durch fünfminütiges langsames Drehen und Wenden der Suspension wurde sie mit Fluorescein markiert. Danach wurden die Erythrozyten mit einer Kalziumgluconat-Lösung (Calcium-Sandoz 10%, Novartis, Nürnberg) auf 10 ml resuspendiert und wiederum durch Drehen und Wenden über 5 Minuten gewaschen. Die Erythrozyten wurden dann abzentrifugiert (siehe Tabelle 4 „Durchflusszytometrie“), das Kalzium-/Fluorescein-Gemisch abpipettiert und die Erythrozyten mit einer Natriumchlorid-Lösung (NaCl 0,9%) auf 10,5 ml resuspendiert. 0,5 ml dienten zur Bestimmung der Erythrozytenzahl am Counter. Die Aufbereitung der Erythrozytensuspension erfolgte unter sterilen Bedingungen.

### 2.4.1.2.2. Blutentnahme

Vor Injektion der Erythrozytensuspension gewannen wir 1,8ml arterielles EDTA-Blut als Nullwert, welches wir auch zur Blutbildbestimmung verwendeten. Die fluoresceinmarkierte Erythrozytensuspension (10 ml) injizierten wir dann zentralvenös, und fünf Minuten nach Injektion entnahmen wir arterielles EDTA-Blut.

### 2.4.1.2.3. Messung am Durchflusszytometer

Die Blutproben (1,8 ml EDTA-Blut) verdünnten wir auf 1:100.

Dazu wurden aus jeder der beiden Blutproben 100 µl in jeweils 900 µl Pufferlösung gegeben.

Aus diesen beiden Gemischen gaben wir dann wiederum 100 µl in 900 µl Pufferlösung.

Dieser Verdünnungsreihe folgte die Messung am Durchflusszytometer (FACSCalibur, Becton/Dickinson). Wir verwendeten die Software Cell Quest® (Becton/Dickinson, Version 1.2.2.). Für jede Messung werteten wir 5000 Zellen („events“) aus. Mit dem Vorwärtstreulicht („forward light scatter“, FSC) und Rechtwinkelstreulicht („side scatter“, SSC) wurde der zur Messung der Erythrozyten erforderliche Bereich festgelegt. Zunächst wurde die ungefärbte Probe gemessen und damit die höchste Kanalnummer bestimmt, in welche die Fluoreszenz einer ungefärbten Zelle noch fallen kann. Danach wurde die gefärbte Probe gemessen. Das Intensitätsprofil der fluoreszierenden Erythrozyten wurde als Häufigkeitshistogramm dargestellt. Die horizontale Achse beschrieb dabei die Intensität des Farbstoffs (in Kanälen von 0 bis 1023 klassifiziert), die vertikale Achse beschrieb die Anzahl der Zellen („counts“). Das Setzen der Fenster („gates“) erfolgte erneut nach jeder Messung. Zur statistischen Auswertung verwendeten wir den prozentualen Anteil der „events gated“ und den Median der Fluoreszenz.

Das Erythrozytenvolumen errechnete sich aus folgender Formel:

$$\text{Erythrozytenvolumen} = 10\text{ml}^2 \cdot Hkr^3 \cdot 5000^4 / Erys^5$$

Das Blutvolumen errechnet sich nun aus folgender Formel:

$$\text{Blutvolumen} = \text{Erythrozytenvolumen} / \text{Hämatokrit}$$

<sup>2</sup> 10ml entspricht der Menge der injizierten fluoresceinmarkierten Erythrozytensuspension

<sup>3</sup> Hämatokrit der fluoresceinmarkierten Erythrozytensuspension (angegeben als Dezimalzahl)

<sup>4</sup> Anzahl der gemessenen Erythrozyten im Durchflusszytometer („events“)

<sup>5</sup> Anzahl der gemessenen markierten Erythrozyten im Durchflusszytometer

### 2.4.1.3. Material

**Tabelle 9      Material für Durchflusszytometrie**

	Artikelbezeichnung	Unternehmen	Artikelnummer
Durchflusszytometer	<ul style="list-style-type: none"> <li>FACSCalibur</li> <li>Software: Cell Quest® Version 1.2.2.</li> </ul>	Becton/Dickinson, New Jersey  Becton/Dickinson, Heidelberg	IC-Nr.: 9103 Serien-Nr.: E 0449 Serien-Nr.: C10 CBCH83WLP
Blutentnahme und Stabilisator zur Markierung der Erythrozyten	<ul style="list-style-type: none"> <li>KABEVETTE® 10 ml</li> <li>Liquemin® N 25.000 5 ml</li> </ul>	KABE Labortechnik, Nümbrecht Roche, Mannheim	S515 N10  47 197
Markierung der Erythrozyten	<ul style="list-style-type: none"> <li>Fluorescein-Lösung 10 %</li> <li>NaCl 0,9% 10 ml</li> <li>Calcium Sandoz 10% 10 ml</li> <li>Spritze 10 ml</li> <li>Kanülen</li> </ul>	Alcon Pharma, Freiburg  Novartis Pharma, Nürnberg	
Blutentnahme und Stabilisator für die Messung am Durchflusszytometer	<ul style="list-style-type: none"> <li>KABAVETTE® 1,8 ml, EDTA di-Kaliumsalz</li> </ul>	KABE Labortechnik, Nümbrecht	E201 N2
Küvetten	<ul style="list-style-type: none"> <li>Falcon® 5 Polystyrol-Rundbodenröhrchen, 12 x 75 ml</li> </ul>	Becton/Dickinson, New Jersey	35 20 54
Pipetten	<ul style="list-style-type: none"> <li>Eppendorf Reference®, 10 – 100 ml</li> <li>Pipettenspitzen, gelb</li> </ul>	Eppendorf, Hamburg  Eppendorf, Hamburg	4 910.000.042
Zentrifuge	<ul style="list-style-type: none"> <li>Minifuge RF</li> </ul>	Heraeus, Hanau	4670

## 2.4.2. Bestimmung des Plasmavolumens am Photometer mit Indocyaningrün

### 2.4.2.1. Testprinzip

Die Indocyaningrün (ICG) -Konzentration im Plasma wurde anhand der optischen Dichte im Photometer gemessen. Die UV- und VIS-Lampe deckte sowohl den ultravioletten als auch den sichtbaren Spektralbereich ab. Die Wellenlänge betrug 500 nm.

### 2.4.2.2. Durchführung

#### Abnahmereihe:

Bevor wir die ICG-Lösung (ICG-PULSION®, Medical Systems) als Bolus über fünf Sekunden zentralvenös injizierten, entnahmen wir den Nullwert. Exakt 2, 3 und 4 Minuten nach ICG-Injektion gewannen wir weitere Blutproben, die wir bis zur Zentrifugation (Tabelle 3) unter Lichtausschluss aufbewahrten. Das nach der Zentrifugation gewonnene Plasma wurde tiefgefroren (-80°C) und zu einem späteren Zeitpunkt gemessen.

Anmerkung: In der klinischen Studie änderte sich die Indocyaningrün-Konzentration der ICG-Lösung. Die Patienten 1 bis 15 bekamen 50mg ICG pro Messzeitpunkt, die Patienten 16 bis 21 25mg.

#### Messung am Photometer:

Die Plasmaproben wurden aufgetaut und die Extinktion im Photometer gegen den Nullwert gemessen. Als Nullwert verwendeten wir das Plasma der 1.8 ml EDTA-Blutprobe, die wir vor der ICG-Injektion abnahmen.

Die Berechnung des Plasmavolumens anhand der Extinktionswerte erfolgte nach einer Formel, die wir anhand einer Kallibrationskurve im Bereich 0 - 10 µg/l erstellten. In dieser Standardreihe verlief die Konzentration zur Extinktion linear. Als Berechnungsgrundlage der Konzentration im Plasma  $x$  diente die Steigung  $a$ , der Achsenabschnitt  $b$  und der Median der Extinktion  $y$ .



$$x = (y-b) / a$$

Das Plasmavolumen ergab sich aus dem Quotienten der injizierten ICG-Menge und der ermittelten Konzentration im Plasma  $x$ .

Das Blutvolumen berechnet sich nach der Formel:

$$\text{Blutvolumen} = \text{Plasmavolumen} / (1 - \text{Hämatokrit})$$

### 2.4.2.3. Material

**Tabelle 10**      **Material für photometrische Bestimmung des Plasmavolumens**

	Artikelbezeichnung	Unternehmen	Artikelnummer
Photometer und Zubehör	<ul style="list-style-type: none"> <li>Lambda Bio, UV/VIS-Spektrometer</li> <li>½ - Mikro Einmalküvetten</li> </ul>	Perkin Elmer, Norwalk, Centucky ratio lab, Dreieich	
Lagerung	<ul style="list-style-type: none"> <li>Standard-Reaktionsgefäß 1,5 ml</li> </ul>	Eppendorf, Hamburg	0 030 106.008
Blutentnahme und Stabilisator	<ul style="list-style-type: none"> <li>KABAVETTE® 1.8 ml, EDTA di-Kaliumsalz</li> </ul>	KABE Labortechnik, Nümbrecht	E201 N2
Zentrifuge	<ul style="list-style-type: none"> <li>Minifuge RF</li> </ul>	Heraeus, Hanau	4670

## 2.5. Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit (BSG)

### 2.5.1. Testprinzip

Die Sedimentationsgeschwindigkeit von Erythrozyten wurde in Abhängigkeit der Zeit gegen die Strecke gemessen.

### 2.5.2. Durchführung

Wir gaben 1,3 ml Vollblut mit Stabilisator (siehe Tabelle 4) in eine für die BSG Messung vorgesehene Spritze mit einem Kolben, an die ein graduiertes Senkungsröhrchen

angeschlossen wurde. Den in der Spritze enthaltenen Stabilisator haben wir verworfen. Das Blut wurde mit Hilfe des Kolbens aus der Spritze in das Röhrchen gedrückt. Das Röhrchen haben wir für die Messung senkrecht aufgestellt, um fehlerhafte Messungen zu vermeiden.

Die Werte wurden nach 10 und 30 Minuten und 1 und 2 Stunden abgelesen.

Die verwendeten Materialien sind in Tabelle 11 aufgeführt.

### 2.5.3. Material

**Tabelle 11**      **Material für Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit**

	Artikelbezeichnung	Unternehmen	Artikelnummer
Blutsenkung	<ul style="list-style-type: none"> <li>KABAVETTE BSG 212, N1</li> <li>Senkungsröhrchen</li> </ul>	KABE Labortechnik, Nümbrecht	070 230
Blutentnahme und Stabilisator	<ul style="list-style-type: none"> <li>KABEVETTE® 10 ml</li> <li>Glukose 5% 100 ml</li> <li>Natriumzitrat 4% 250 ml</li> </ul>	KABE Labortechnik, Nümbrecht Braun, Melsungen Haemonetics, Massachusetts	S515 N10  6714567.02.01
Pipetten	<ul style="list-style-type: none"> <li>Eppendorf Varipette® 4810, 200 – 1000 µl</li> <li>Pipettenspitzen 2.5 µl</li> </ul>	Eppendorf, Hamburg  Eppendorf, Hamburg	4810 000.029

---

## **2.6. Blutbild**

### **2.6.1. Testprinzip**

Zur Zellzählung wurde die in der Hämatologie übliche Methodik verwendet: Der Celltrak 11 verwendet die elektrische Leitungsmethode, um Blutzellen zu zählen und ihre Größe zu bestimmen. In der Testlösung wurde die Stärke des elektrischen Stroms gemessen. Die sich in der Lösung befindenden, elektrisch schlechter leitenden Zellen lösten einen elektrischen Impuls aus. Die Anzahl und die Größe der Impulse war hierbei proportional zur Anzahl und Größe der Zellen (Herstellerangaben). Das Fenster für die Thrombozytenerkennung wurde auf 2 bis 20 fl, für die Erythrozytenerkennung oberhalb von 32 fl festgesetzt.

### **2.6.2. Durchführung**

In Abhängigkeit von Studienkollektiv und Untersuchungsmethode wurden sowohl unterschiedliche Zielkomponenten untersucht als auch unterschiedliche Stabilisatoren und Antikoagulantien verwendet, die Tabelle 4 zu entnehmen sind.

Es wurden Erythrozytenzahl, Leukozytenzahl, mittleres Erythrozytenvolumen, Thrombozytenzahl und mittleres Thrombozytenvolumen bestimmt.

Die Hämoglobinbestimmung nach der Cyanmethämoglobin-Methode erfolgte photometrisch bei 540 nm.

Die verwendeten Materialien sind in Tabelle 12 aufgeführt.

### 2.6.3. Material

**Tabelle 12      Material für Zelldifferential im Vollblut**

	Artikelbezeichnung	Unternehmen	Artikelnummer
Counter	<ul style="list-style-type: none"> <li>Celltrak 11</li> </ul>	NOVA biomedical, Rödermark	
Blutentnahme und Stabilisator	<ul style="list-style-type: none"> <li>KABEVETTE® 10 ml</li> <li>Liquemin® N 25.000 5 ml</li> <li>KABAVETTE® 1.8 ml, EDTA di-Kaliumsalz</li> </ul>	KABE Labortechnik, Nümbrecht Roche, Mannheim  KABE Labortechnik, Nümbrecht	S515 N10  47 197  E201 N2
Pipetten	<ul style="list-style-type: none"> <li>Eppendorf Varipette® 4810, 200 – 1000 µl</li> <li>Pipettenspitzen 2.5 µl</li> </ul>	Eppendorf, Hamburg  Eppendorf, Hamburg	4810 000.029

---

## **2.7. Statistische Methoden**

Die statistische Auswertung wurde mit SPSS Version 10.0 für Microsoft Windows (SPSS Inc., Chicago, Illinois 60606, USA) auf einem IBM-kompatiblen PC durchgeführt. Für die Erstellung der Graphiken fand das Programm Microsoft® Excel 2000 Verwendung. Für die Zeitpunkte der Gruppen (HES 200, HES 130 und Ringer/NaCl) wurden die Mittelwerte errechnet und  $\pm$  der Standardabweichung angegeben. Um Unterschiede zwischen den Gruppen zu erkennen, berechneten wir die prozentuale Veränderung der Parameter an Zeitpunkt t2 und t3 zu t1 ( $t2/t1$ ;  $t3/t1$ ). In den graphischen Darstellungen ist der Fehlerbalken mit Mittelwert und Standardfehler des Mittelwertes zu sehen.

Als Test für das Vorliegen einer Normalverteilung in der klinischen Studie wurde der Kolmogorov-Smirnov Test auf Normalverteilung durchgeführt. Die Nullhypothese (die Häufigkeitsverteilung der Variablen und die Normalverteilung sind verschieden) wurde bei  $p < 0,05$  abgelehnt.

In Fällen, in denen eine Normalverteilung angenommen werden konnte, wurde die Multivarianzanalyse mit Messwertwiederholung angewandt. Post hoc wurde der t-Test genommen.

Bei nicht Vorliegen einer Normalverteilung kam der Friedman Test zur Anwendung, post hoc der u-Test.

In der in-vitro Studie kam der Friedman Test zur Anwendung, post hoc der u-Test.

### 3. Ergebnisse

#### 3.1. Klinische Studie

##### 3.1.1. Impedanzaggregometrie nach CARDINAL und FLOWER

In Tabelle 13 sind die Parameter der Messzeitpunkte in Abhängigkeit von der Gruppenzugehörigkeit aufgeführt. Es zeigte sich, dass es zwischen Messzeitpunkt t2 und t3 bei allen Infusionslösungen zu einer signifikanten Zunahme der maximalen Aggregation kam (Abbildung 5).

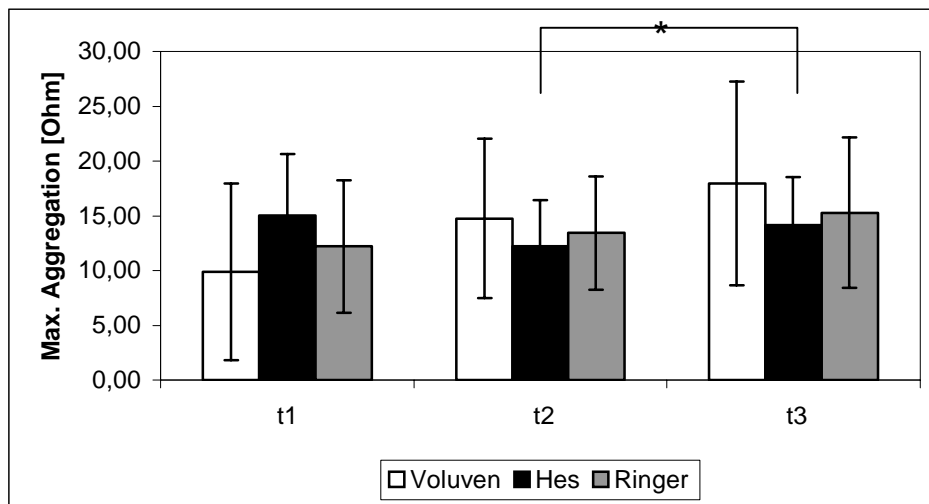
Wie in Tabelle 14 prozentual dargestellt, kam es im Vergleich der einzelnen Infusionen miteinander zu keinen signifikanten Veränderungen, allerdings zeigten sich in der Voluven-Gruppe die deutlichsten Erhöhungen sowohl in der Steigung als auch in der maximalen Aggregation.

**Tabelle 13** Impedanzaggregometrie (nach Cardinal/Flower) in Abhängigkeit von Gruppenzugehörigkeit und Messzeitpunkt t1=nach Narkoseeinleitung, t2=nach 1 Liter HES bzw. 2 Liter Ringer, t3=4 Stunden nach Hautnaht. MW=Mittelwert, STD=Standardabweichung. \* = Signifikanz  $p < 0,05$  gegenüber t2.

		Steigung [Ohm/min]		Max. Aggregation [Ohm]	
		MW	STD	MW	STD
Vluven	t1	3,31	2,77	9,90	8,08
	t2	4,73	2,61	12,30	8,86
	t3	5,53	2,90	14,95*	11,09
HES	t1	4,92	1,96	15,03	5,64
	t2	4,55	1,65	12,25	4,21
	t3	4,01	1,78	14,17*	4,38
Ringer	t1	4,31	2,13	12,20	6,07
	t2	4,37	2,04	13,44	5,17
	t3	5,49	3,15	15,28*	6,88

**Tabelle 14 Impedanzaggregometrie (nach Cardinal/Flower). Prozentuale Veränderung der Parameter an den Messzeitpunkten t2 und t3 zu t1. Messzeitpunkte siehe Tabelle 13.**

		Steigung [%]		Max. Aggregation [%]	
		MW	STD	MW	STD
Voluven	t2/t1	191,99	142,10	127,34	91,15
	t3/t1	244,99	217,97	151,54	99,55
HES	t2/t1	112,11	82,24	102,40	81,89
	t3/t1	110,04	111,76	112,18	69,33
Ringer	t2/t1	103,25	27,69	119,68	49,61
	t3/t1	128,19	43,14	132,28	42,14



**Abbildung 5 Impedanzaggregometrie (nach Cardinal/Flower). Maximale Aggregation von Voluven, HES und Ringer zu den Messzeitpunkten t1=nach Narkoseeinleitung, t2=nach 1 Liter Voluven/HES bzw. 2 Liter Ringer, t3=4 Stunden nach Hautnaht. \*= p<0,05**

### 3.1.2. Thrombelastographie

**Tabelle 15** Thrombelastographie (nach Hartert) in Abhängigkeit von Gruppenzugehörigkeit und Messzeitpunkt t1=nach Narkoseeinleitung, t2=nach 1 Liter HES bzw. 2 Liter Ringer, t3=4 Stunden nach Hautnaht. r= Reaktionszeit, r+k=Gerinnselformierungszeit, MA=Maximale Amplitude. MW=Mittelwert, STD=Standardabweichung. \* = Signifikanz  $p < 0,05$  gegenüber t1. ^ = Signifikanz  $p < 0,05$  gegenüber Ringer.

		r [mm]		r+k [mm]		MA [mm]	
		MW	STD	MW	STD	MW	STD
Volumen	t1	10,33	1,72	14,56	2,49	47,21	3,33
	t2	10,71	1,62	16,08	4,90	40,58*^	5,24
	t3	8,34	1,58	12,29	2,03	47,67	4,32
HES	t1	9,67	2,77	14,58	4,03	48,00	6,54
	t2	9,21	1,63	13,54	2,19	46,25*^	5,27
	t3	11,54	3,19	19,46	4,98	37,50	10,66
Ringer	t1	9,29	2,88	13,21	4,52	53,63	7,36
	t2	9,17	0,65	12,79	2,04	51,50*	4,04
	t3	8,54	3,36	12,29	4,82	54,58	6,78

**Tabelle 16** Thrombelastographie (nach Hartert). Prozentuale Veränderung der Parameter an den Messzeitpunkten t2 und t3 zu t1. Messzeitpunkte und Abkürzungen siehe Tabelle 15.

		r [%]		r+k [%]		MA [%]	
		MW	STD	MW	STD	MW	STD
Volumen	t2/t1	102,01	26,92	109,23	21,26	85,94	8,61
	t3/t1	81,30	11,85	85,25	11,49	101,41	11,56
HES	t2/t1	104,10	37,97	101,97	41,11	97,49	14,72
	t3/t1	128,36	49,74	152,23	84,89	78,87	21,35
Ringer	t2/t1	107,60	35,45	107,97	41,10	97,11	11,09
	t3/t1	97,83	37,22	97,82	32,02	102,01	3,67

In allen Gruppen kam es nach der Infusion von Volumenersatzmitteln (t2) zu einem signifikanten Abfall der maximalen Amplitude, wie dies in Tabelle 15 zu sehen ist ( $p < 0,05$ ). Signifikante Unterschiede zwischen den Infusionslösungen bestand sowohl zwischen Volumen und Ringer als auch zwischen HES und Ringer. Die beiden Kolloide wiesen keine signifikanten Unterschiede auf.



In Tabelle 16 ist die prozentuale Veränderung der Parameter an den Messzeitpunkten t2 und t3 zu t1 dargestellt.

### 3.1.3. In-vitro Blutungstest

#### 3.1.3.1. Agonist: Epinephrin

**Tabelle 17** In-vitro Blutungstest mit Epinephrin in Abhängigkeit von Gruppenzugehörigkeit und Messzeitpunkt t1=nach Narkoseeinleitung, t2=nach 1 Liter HES bzw. 2 Liter Ringer, t3=4 Stunden nach Hautnaht. MW=Mittelwert, STD=Standardabweichung. \* = Signifikanz  $p < 0,01$  gegenüber t1. ^ = Signifikanz  $p < 0,01$  gegenüber t1. ° = Signifikanz  $p < 0,01$  gegenüber t2.

		Okklusionszeit [sec]	
		MW	STD
Vuluven	t1	113,17	26,90
	t2	133,01*	13,95
	t3	76,67 <sup>^°</sup>	18,05
HES	t1	98,33	25,29
	t2	149,83*	58,41
	t3	75,25 <sup>^°</sup>	13,14
Ringer	t1	115,58	56,77
	t2	132,75*	40,55
	t3	66,25 <sup>^°</sup>	13,03

**Tabelle 18** In-vitro Blutungstest mit Epinephrin. Prozentuale Veränderung der Parameter an den Messzeitpunkten t2 und t3 zu t1 (t2/t1; t3/t1). Messzeitpunkte siehe Tabelle 17.

		Okklusionszeit [%]	
		MW	STD
Voluven	t2/t1	122,92	31,40
	t3/t1	69,80	17,92
HES	t2/t1	153,14	49,84
	t3/t1	83,46	35,61
Ringer	t2/t1	125,13	27,72
	t3/t1	65,11	23,45

### 3.1.3.2. Agonist: ADP

**Tabelle 19** In-vitro Blutungstest mit ADP in Abhängigkeit von Gruppenzugehörigkeit und Messzeitpunkt t1=nach Narkoseeinleitung, t2=nach 1 Liter HES bzw. 2 Liter Ringer, t3=4 Stunden nach Hautnaht. MW=Mittelwert, STD=Standardabweichung. \* = Signifikanz  $p < 0,01$  gegenüber t1. ^ = Signifikanz  $p < 0,01$  gegenüber t1. ° = Signifikanz  $p < 0,01$  gegenüber t2.

		Okklusionszeit [sec]	
		MW	STD
Voluven	t1	82,83	24,76
	t2	92,42*	22,63
	t3	58,00^°	9,35
HES	t1	83,33	17,20
	t2	115,42*	34,72
	t3	67,67^°	9,16
Ringer	t1	83,92	19,28
	t2	104,92*	30,52
	t3	50,83^°	4,47

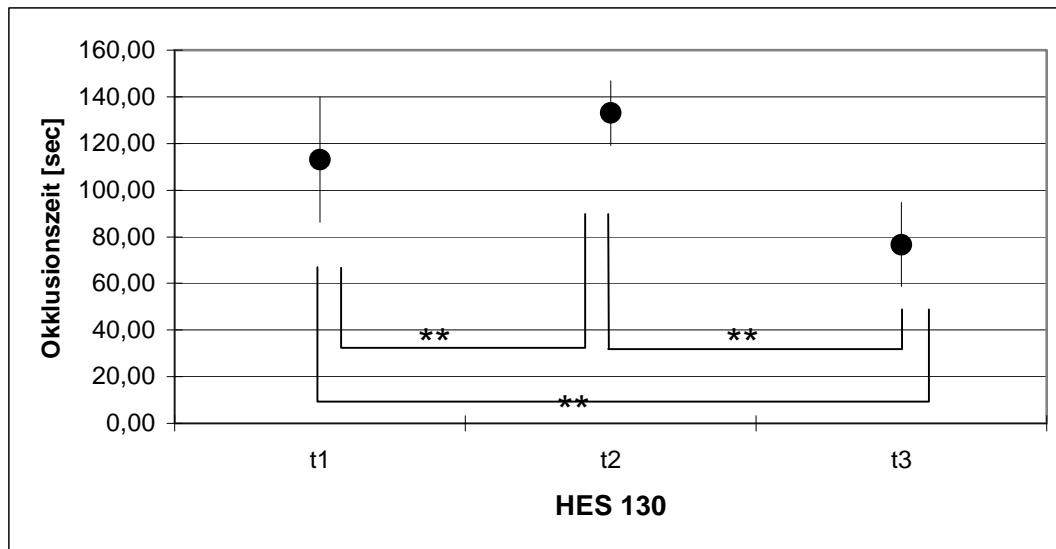
**Tabelle 20** In-vitro Blutungstest mit ADP. Prozentuale Veränderung der Parameter an den Messzeitpunkten t2 und t3 zu t1 (t2/t1; t3/t1). Messzeitpunkte siehe Tabelle 19.

		Okklusionszeit [%]	
		MW	STD
Voluven	t2/t1	118,63	39,98
	t3/t1	73,96	18,04
HES	t2/t1	138,62	29,81
	t3/t1	85,08	25,97
Ringer	t2/t1	125,20	18,11
	t3/t1	63,06	13,39

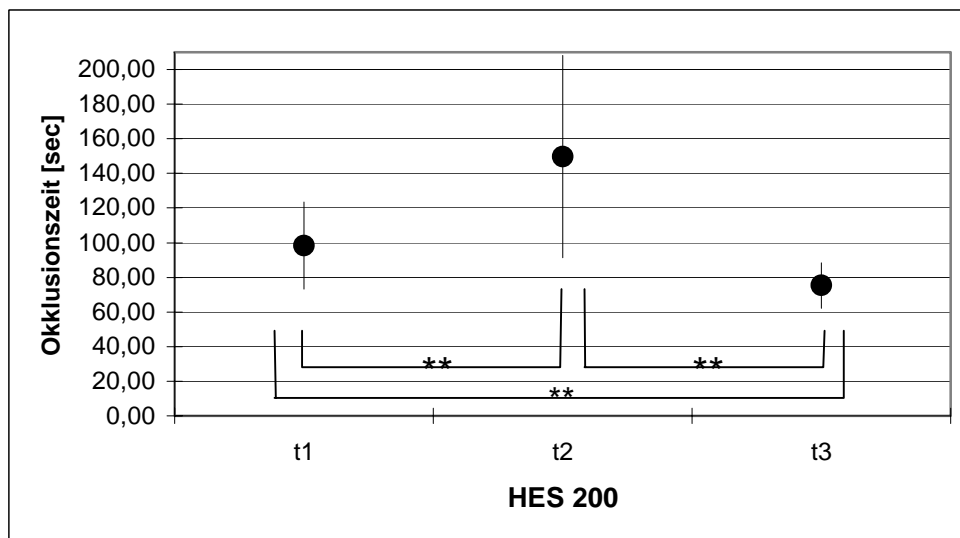
In allen Gruppen kam es sowohl mit dem Agonisten Epinephrin als auch mit dem Agonisten ADP zu einer hochsignifikant verlängerten Okklusionszeit zum Zeitpunkt t2 und zu einer hochsignifikant verkürzten Okklusionszeit zum Zeitpunkt t3 (Tabelle 17, Tabelle 18, Tabelle 19, Tabelle 20).

Die graphischen Darstellungen (Abbildung 6, Abbildung 7, Abbildung 8) zeigen am Beispiel des Agonisten Epinephrin die Okklusionszeiten in Abhängigkeit vom Messzeitpunkt. Die Klammern beschreiben die Signifikanzen.

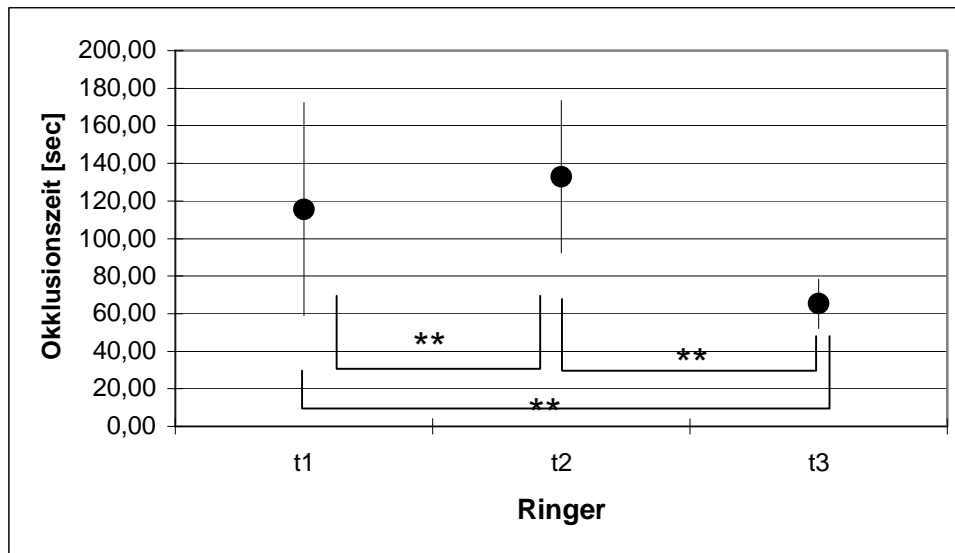
Die Wirkungen von Voluven, HES und Ringer auf die Okklusionszeit im in-vitro Blutungstest sind identisch, denn im Vergleich der Infusionslösungen untereinander ergaben sich keine Signifikanzen.



**Abbildung 6** In-vitro Blutungstest mit Epinephrin in der Voluven-Gruppe in Abhängigkeit von Messzeitpunkt t1=nach Narkoseeinleitung, t2=nach 1 Liter Voluven, t3=4 Stunden nach Hautnaht. \*\* = $p < 0,01$



**Abbildung 7** In-vitro Blutungstest mit Epinephrin in der HES-Gruppe in Abhängigkeit von Messzeitpunkt t1=nach Narkoseeinleitung, t2=nach 1 Liter HES, t3=4 Stunden nach Hautnaht. \*\* = $p < 0,01$



**Abbildung 8** In-vitro Blutungstest mit Epinephrin in der Ringer-Gruppe in Abhängigkeit von Messzeitpunkt t1=nach Narkoseeinleitung, t2=nach 2 Liter Ringer, t3=4 Stunden nach Hautnaht. \*\*= $p < 0,01$

### 3.1.4. Induzierte Thrombozytenaggregation in plättchenreichen Plasma

#### 3.1.4.1. Induktor: ADP

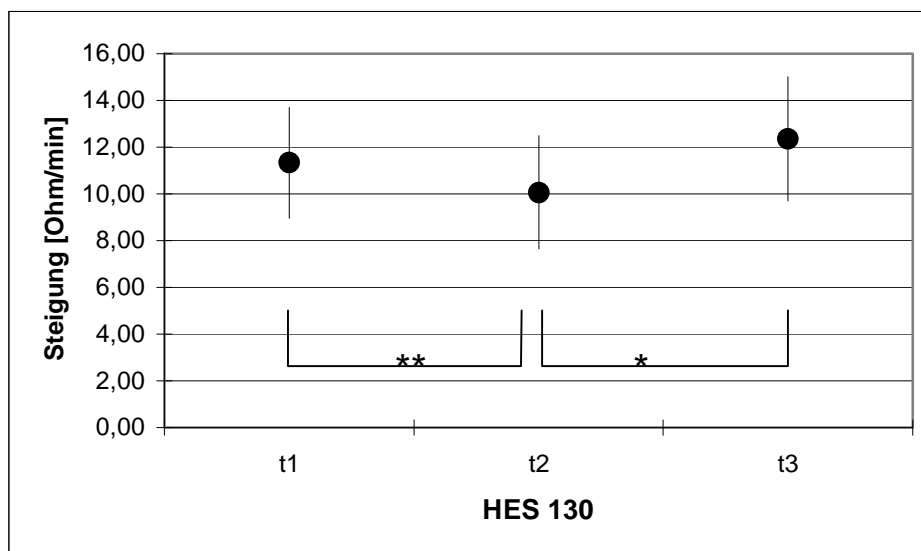
**Tabelle 21** Induzierte Thrombozytenaggregation mit ADP in plättchenreichen Plasma in Abhängigkeit von Gruppenzugehörigkeit und Messzeitpunkt t1=nach Narkoseeinleitung, t2=nach 1 Liter HES bzw. 2 Liter Ringer, t3=4 Stunden nach Hautnaht. MW=Mittelwert, STD=Standardabweichung. \* = Signifikanz  $p < 0,01$  gegenüber t1. ^ = Signifikanz  $p < 0,05$  gegenüber t2

		Steigung [Ohm/min]		Max. Aggregation [Ohm]	
		MW	STD	MW	STD
Vuluven	t1	11,33	2,37	28,87	2,77
	t2	10,06*	2,43	26,12*	4,93
	t3	12,35^	2,66	29,43	4,83
HES	t1	10,56	2,05	27,03	6,23
	t2	8,44*	2,81	24,21*	7,63
	t3	91,17^	3,50	24,88	7,76
Ringer	t1	11,26	2,22	30,02	6,64
	t2	9,41*	2,39	25,18*	6,19
	t3	11,24^	3,46	28,12	7,2

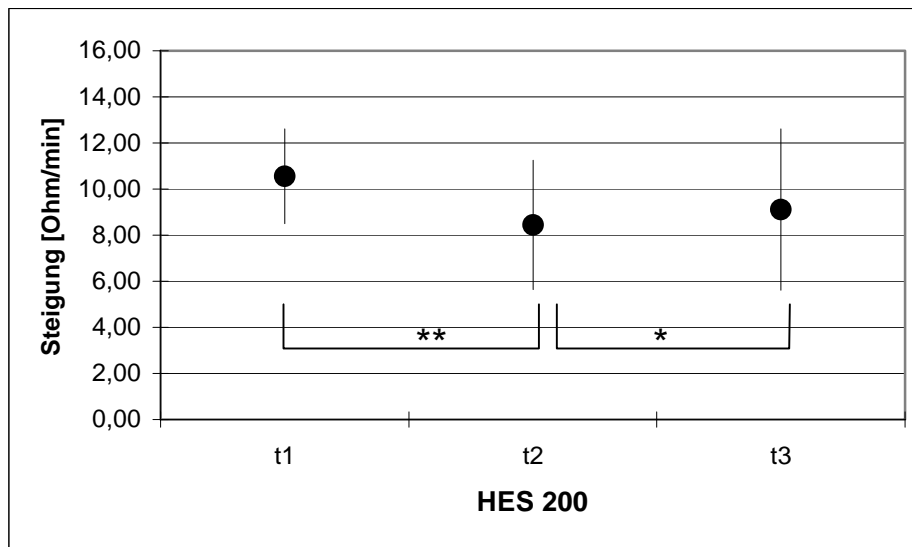
**Tabelle 22** Induzierte Thrombozytenaggregation mit ADP im plättchenreichen Plasma. Prozentuale Veränderung der Parameter an den Messzeitpunkten t2 und t3 zu t1 (t2/t1; t3/t1). Messzeitpunkte siehe Tabelle 21.

		Steigung [%]		Max. Aggregation[%]	
		MW	STD	MW	STD
Voluven	t2/t1	90,69	21,78	90,16	11,41
	t3/t1	113,37	27,00	101,56	10,48
HES	t2/t1	78,57	16,64	88,75	14,17
	t3/t1	84,28	22,44	91,48	20,69
Ringer	t2/t1	83,85	18,22	84,58	15,81
	t3/t1	103,20	39,88	96,47	30,11

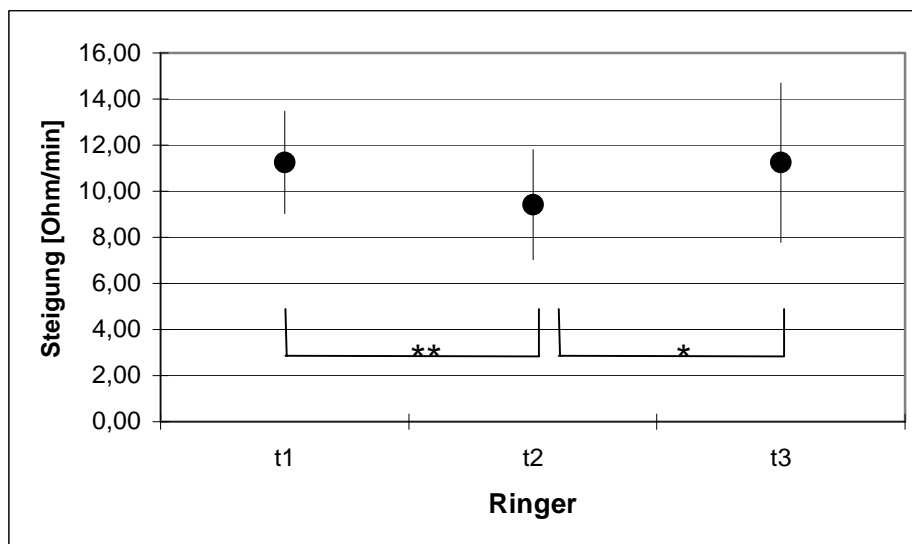
Wie in Tabelle 21 zu sehen, kam es in allen Gruppen zwischen den Zeitpunkten t1 und t2 zu einer hochsignifikanten Abnahme der Steigung und der maximalen Aggregation und zwischen t2 und t3 zu einer signifikanten Zunahme der Steigung (siehe auch Abbildung 9, Abbildung 10, Abbildung 11).



**Abbildung 9** Induzierte Thrombozytenaggregation mit ADP im plättchenreichen Plasma in der Voluven-Gruppe. Vergleich der Steigung in Abhängigkeit von Messzeitpunkt t1=nach Narkoseeinleitung, t2=nach 1 Liter Voluven, t3=4 Stunden nach Hautnaht. \*=p<0,05; \*\*=p<0,01



**Abbildung 10** Induzierte Thrombozytenaggregation mit ADP im plättchenreichen Plasma in der HES-Gruppe. Vergleich der Steigung in Abhängigkeit von Messzeitpunkt t1=nach Narkoseeinleitung, t2=nach 1 Liter HES, t3=4 Stunden nach Hautnaht. \* =  $p < 0,05$ ; \*\* =  $p < 0,01$



**Abbildung 11** Induzierte Thrombozytenaggregation mit ADP im plättchenreichen Plasma in der Ringer-Gruppe. Vergleich der Steigung in Abhängigkeit von Messzeitpunkt t1=nach Narkoseeinleitung, t2=nach 2 Liter Ringer, t3=4 Stunden nach Hautnaht. \*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$

### 3.1.4.2. Induktor: Ristozetin

**Tabelle 23** Induzierte Thrombozytenaggregation mit Ristozetin im plättchenreichen Plasma in Abhängigkeit von Gruppenzugehörigkeit und Messzeitpunkt t1=nach Narkoseeinleitung, t2=nach 1 Liter HES bzw. 2 Liter Ringer, t3=4 Stunden nach Hautnaht. MW=Mittelwert, STD=Standardabweichung. \* = Signifikanz  $p < 0,05$  gegenüber t1. ^ = Signifikanz  $p < 0,05$  gegenüber t1.

		Steigung [Ohm/min]		Max. Aggregation [Ohm]		Schwellenwert [ $\mu$ L]	
		MW	STD	MW	STD	MW	STD
Voluven	t1	10,97	1,38	28,43	1,80	3,63	0,43
	t2	7,80	3,31	25,53	7,43	3,83*	0,68
	t3	10,68	2,68	29,35	4,21	3,58^	0,86
HES	t1	6,54	1,49	26,31	3,04	3,69	0,42
	t2	8,86	1,65	27,63	1,99	3,69*	0,52
	t3	7,59	3,36	25,52	7,73	2,90^	0,49
Ringer	t1	10,30	2,78	29,54	2,40	3,90	0,66
	t2	10,16	3,11	28,88	5,32	3,90*	0,37
	t3	11,06	1,93	30,98	4,74	3,50^	0,45

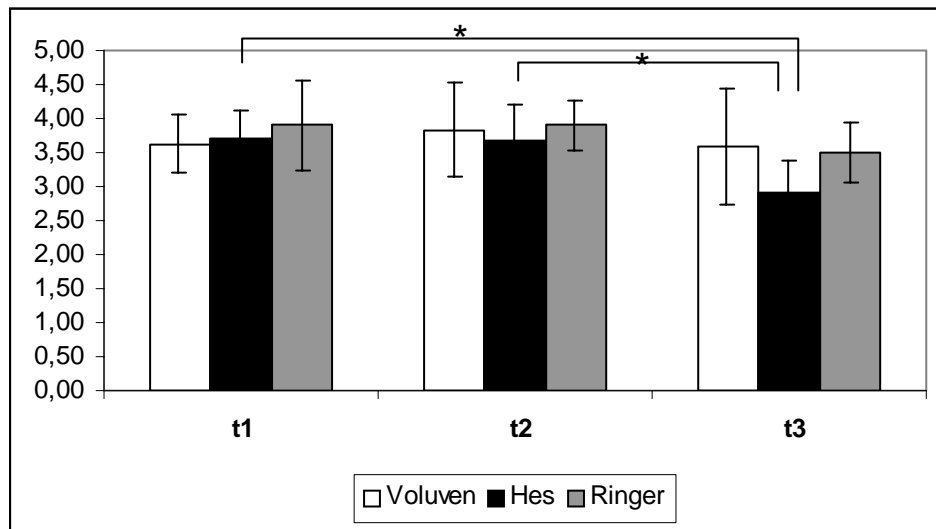
**Tabelle 24** Induzierte Thrombozytenaggregation mit Ristozetin im plättchenreichen Plasma. Prozentuale Veränderung der Parameter *Steigung*, *maximale Aggregation* und *Schwellenwert* an den Messzeitpunkten t2 und t3 zu t1 (t2/t1; t3/t1). Messzeitpunkte siehe Tabelle 23.

		Steigung [%]		Max. Aggregation [%]		Schwellenwert [%]	
		MW	STD	MW	STD	MW	STD
Voluven	t2/t1	72,39	29,42	89,57	25,03	105,73	12,79
	t3/t1	96,36	16,70	103,25	13,90	97,85	16,88
HES	t2/t1	138,23	26,17	105,52	6,38	99,78	8,47
	t3/t1	116,09	43,19	95,78	22,60	78,65	11,75
Ringer	t2/t1	101,20	25,77	97,10	11,64	101,81	16,42
	t3/t1	112,49	27,94	105,76	21,65	91,09	14,24

In Tabelle 23 sind die Parameter der Messzeitpunkte in Abhängigkeit von der Gruppenzugehörigkeit aufgeführt. Es wurden Steigung, maximale Aggregation und Schwellenwert gemessen.



Signifikanzen ergaben sich im Vergleich der Messzeitpunkte t1 zu t3 bzw. t2 zu t3. In beiden Fällen konnten wir einen Abfall des Schwellenwertes feststellen (Abbildung 12).



**Abbildung 12** Induzierte Thrombozytenaggregation mit Ristozetin im plättchenreichen Plasma. Vergleich der Schwellenwerte in Abhängigkeit von Messzeitpunkt t1=nach Narkoseeinleitung, t2=nach 1 Liter Voluven/HES bzw. 2 Liter Ringer, t3=4 Stunden nach Hautnaht. \* = $p < 0,05$

In Tabelle 24 ist die prozentuale Veränderung der Parameter an den Messzeitpunkten t2 und t3 zu t1 dargestellt.

In Bezug auf die gemessenen Parameter fanden sich keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich der verwendeten Infusionslösungen untereinander.

### 3.1.5. Blutvolumenbestimmung

#### 3.1.5.1. Durchflusszytometrie

**Tabelle 25** Blutvolumen mit der Durchflusszytometrie in Abhängigkeit von Gruppenzugehörigkeit und Messzeitpunkt t1=nach Narkoseeinleitung, t2=nach 1 Liter HES bzw. 2 Liter Ringer, t3=4 Stunden nach Hautnaht. MW=Mittelwert, STD=Standardabweichung. \* = Signifikanz  $p < 0,05$  gegenüber t1. \*\* = Signifikanz  $p < 0,01$  gegenüber t1.

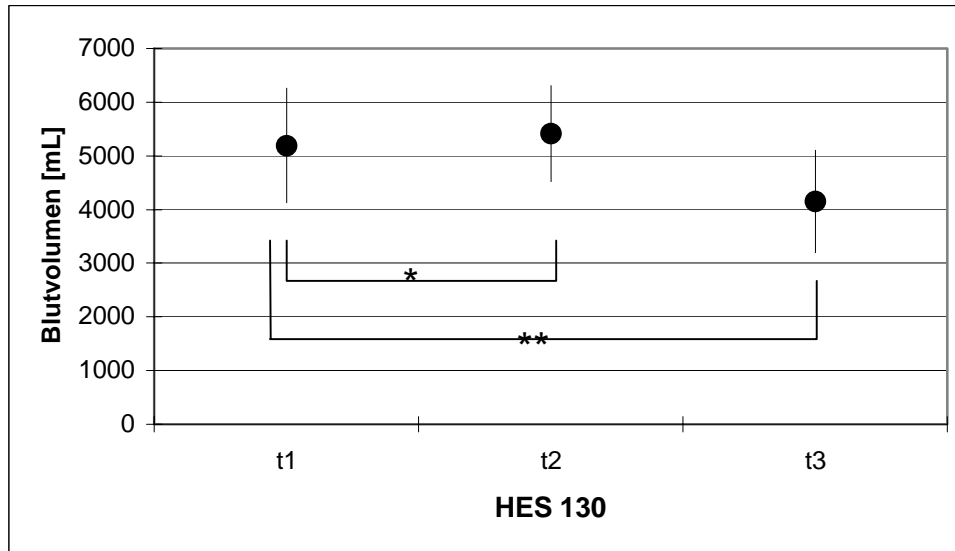
		Blutvolumen [ml]	
		MW	STD
Voluven	t1	5192,68	1072,19
	t2	5417,93*	894,28
	t3	4150,29**	948,83
HES	t1	4081,82	1519,90
	t2	3963,92	1514,59
	t3	3660,35	1143,77
Ringer	t1	4600,69	994,17
	t2	4699,05	545,34
	t3	4801,33	1121,87

**Tabelle 26** Blutvolumen mit der Durchflusszytometrie. Prozentuale Veränderung des Parameters *Blutvolumen* an den Messzeitpunkten t2 und t3 zu t1 (t2/t1; t3/t1). Messzeitpunkte siehe Tabelle 25. \* = Signifikanz  $p < 0,05$  gegenüber Voluven.

		Blutvolumenveränderung [%]	
		MW	STD
Voluven	t2/t1	105,46	9,74
	t3/t1	80,94	14,40
HES	t2/t1	101,35	29,78
	t3/t1	92,96	26,91
Ringer	t2/t1	105,14	20,50
	t3/t1	104,75*	15,13

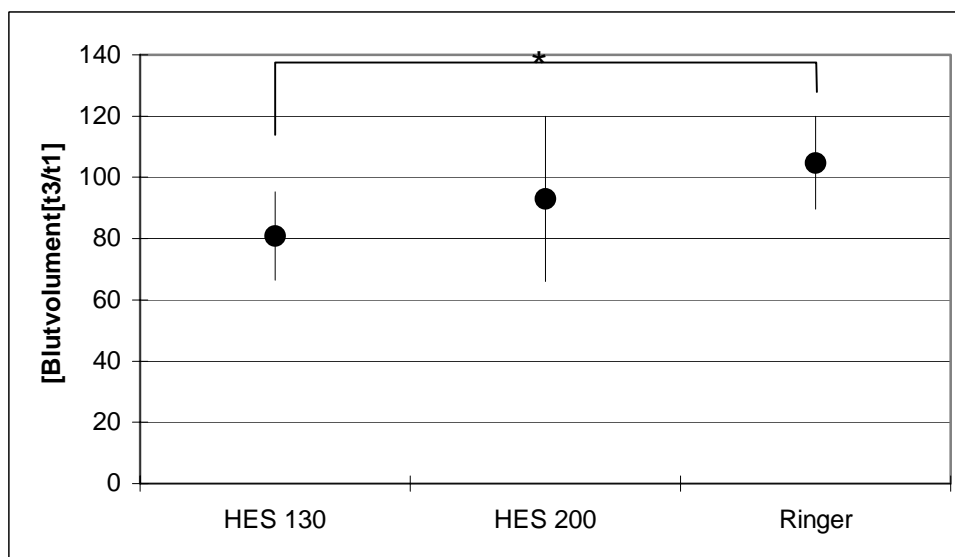
In der Voluven-Gruppe (siehe Abbildung 13) kam es zu einer signifikanten ( $p < 0,05$ ) Zunahme zu Zeitpunkt t2 ( $5417,93 \pm 894,28$ ) und einer hochsignifikanten ( $p < 0,01$ ) Abnahme zu Zeitpunkt t3 ( $4150,29 \pm 948,83$ ). In der HES-Gruppe (siehe Tabelle 25) kam es an beiden

Messzeitpunkten zu einer Abnahme des Blutvolumens ( $t_2: 3963,92 \pm 1514,59$ ;  $t_3: 3660,35 \pm 1143,77$ ) und in der Ringer-Gruppe (siehe Tabelle 25) an beiden Zeitpunkten zu einer Zunahme ( $t_2: 4699,05 \pm 545,34$ ;  $t_3: 4801,33 \pm 1121,87$ ).



**Abbildung 13** Blutvolumen mit der Durchflusszytometrie in der Voluven-Gruppe in Abhängigkeit von Messzeitpunkt  $t_1$ =nach Narkoseeinleitung,  $t_2$ =nach 1 Liter HES,  $t_3$ =4 Stunden nach Hautnaht.

Im Vergleich der Gruppen untereinander (siehe Abbildung 14) kam es zwischen der Voluven- und der Ringer-Gruppe zu einer signifikanten Änderung des Blutvolumens zwischen  $t_1$  und  $t_3$ . Weitere Signifikanzen ergaben sich nicht (siehe Tabelle 26).



**Abbildung 14** Blutvolumen mit der Durchflusszytometrie. Prozentuale Veränderung des Parameters Blutvolumen am Messzeitpunkt  $t_3$  zu  $t_1$ .  $*=p<0,05$

### 3.1.5.2. Photometer

**Tabelle 27** Bestimmung des Blutvolumens am Photometer in Abhängigkeit von Gruppenzugehörigkeit und Messzeitpunkt t1=nach Narkoseeinleitung, t2=nach 1 Liter HES bzw. 2 Liter Ringer, t3=4 Stunden nach Hautnaht. MW=Mittelwert, STD=Standardabweichung. \* = Signifikanz p<0,05 gegenüber t1. ^ = Signifikanz p<0,05 gegenüber t2.

		Blutvolumen [ml]	
		MW	STD
Voluven	t1	6662,80	1168,02
	t2	5862,62*	780,36
	t3	6814,72	2866,19
HES	t1	6373,11	1723,10
	t2	6216,04	1605,90
	t3	4649,47*^	1282,03
Ringer	t1	8267,21	2473,33
	t2	6503,04	3287,40
	t3	4797,73*	1965,16

**Tabelle 28** Bestimmung des Blutvolumens. Prozentuale Veränderung des Parameters *Blutvolumen* an den Messzeitpunkten t2 und t3 zu t1 (t2/t1; t3/t1). Messzeitpunkte siehe Tabelle 27.

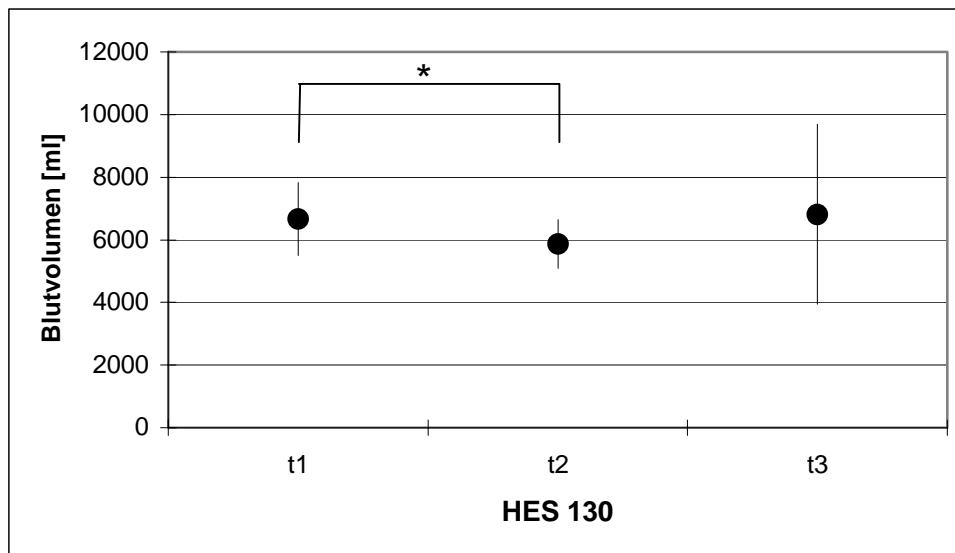
		Blutvolumen [%]	
		MW	STD
Voluven	t2/t1	88,75	9,77
	t3/t1	99,23	29,11
HES	t2/t1	102,89	35,67
	t3/t1	74,33	16,24
Ringer	t2/t1	77,78	27,74
	t3/t1	59,01	25,67

In Tabelle 27 ist der Parameter *Blutvolumen* der Messzeitpunkte in Abhängigkeit von der Gruppenzugehörigkeit aufgeführt.

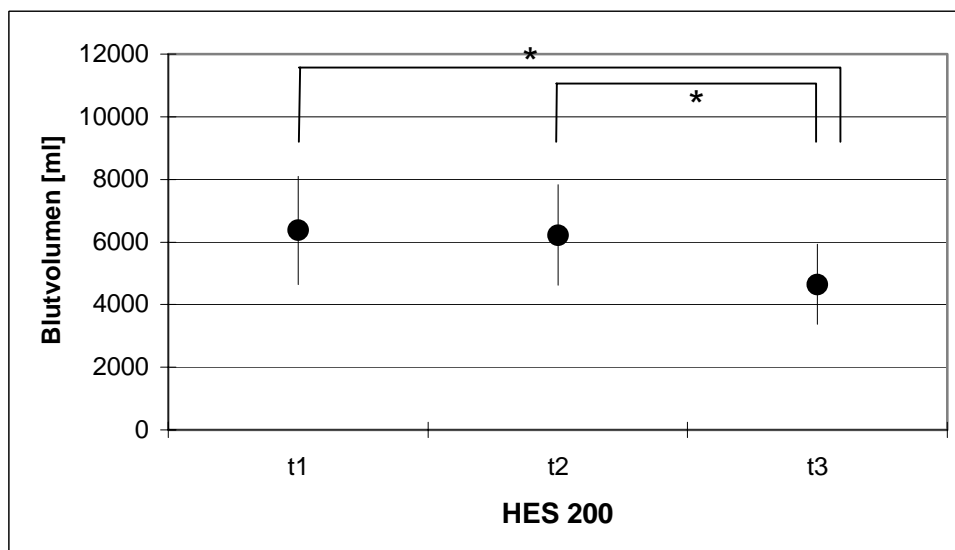
In der Voluven-Gruppe (siehe Abbildung 15) kam es zu einem signifikanten Abfall des Blutvolumens zwischen Zeitpunkt t1 und t2 (t1:6662,80±1168,02; t2:5862,62±780,36; p<0,05).

In der HES-Gruppe (siehe Abbildung 16) kam es sowohl zwischen t1 und t3 (t1:6373,11±1723,10; t3:4649,47±1282,03) als auch zwischen t2 und t3 (t2:6216,04±1605,90; t3:4649,47±1282,03) zu einem signifikanten Abfall des Blutvolumens.

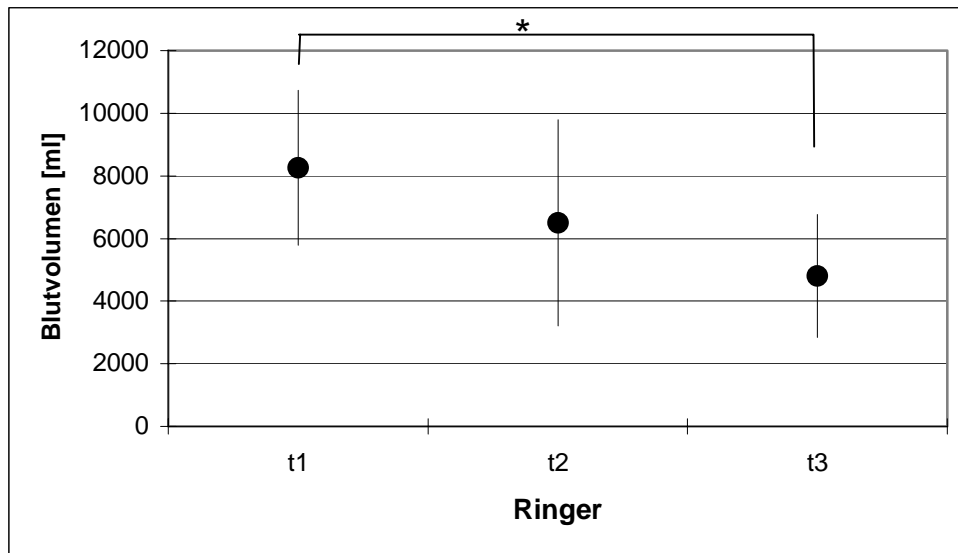
In der Ringer-Gruppe (siehe Abbildung 17) kam es zu einem signifikanten Abfall zwischen t1 und t3 (t1:8267,21±2473,33; t3:4797,73±1965,16).



**Abbildung 15** Bestimmung des Blutvolumens am Photometer in der Voluven-Gruppe. Vergleich des Parameters Blutvolumen in Abhängigkeit von Messzeitpunkt t1=nach Narkoseeinleitung, t2=nach 2 Liter Ringer, t3=4 Stunden nach Hautnaht. \*= p<0,05



**Abbildung 16** Bestimmung des Blutvolumens am Photometer in der HES-Gruppe. Vergleich des Parameters Blutvolumen in Abhängigkeit von Messzeitpunkt t1=nach Narkoseeinleitung, t2=nach 2 Liter Ringer, t3=4 Stunden nach Hautnaht. \*=p<0,05



**Abbildung 17** Bestimmung des Blutvolumens am Photometer in der Ringer-Gruppe. Vergleich des Parameters Blutvolumen in Abhängigkeit von Messzeitpunkt t1=nach Narkoseeinleitung, t2=nach 2 Liter Ringer, t3=4 Stunden nach Hautnaht. \*=  $p < 0,05$

In Tabelle 28 ist die prozentuale Veränderung des Parameters *Blutvolumen* an den Messzeitpunkten t2 und t3 zu t1 aufgeführt.

### 3.1.6. Zelldifferential im Vollblut

**Tabelle 29** Zelldifferential im Vollblut in Abhängigkeit von Gruppenzugehörigkeit und Messzeitpunkt t1=nach Narkoseeinleitung, t2=nach 1 Liter HES bzw. 2 Liter Ringer, t3=4 Stunden nach Hautnaht. RBC=Erythrozyten, Hb=Hämoglobin, MCV=Mittleres korpuskuläres Erythrozytenvolumen, Hkt=Hämatokrit, Plt=Thrombozyten, MPV=Mittleres Plättchenvolumen. MW=Mittelwert, STD=Standardabweichung. Statistik: \* = Signifikanz  $p < 0,05$  gegenüber t1.

		RBC [10 <sup>6</sup> /μL]		Hb [g/dL]		MCV [fl]	
		MW	STD	MW	STD	MW	STD
Voluven	t1	3,78	0,46	11,55	1,61	89,63	3,95
	t2	3,17*	0,24	9,78*	0,83	89,47*	4,14
	t3	3,47	0,21	10,72	0,68	89,17	4,08
HES	t1	4,27	0,20	12,73	0,93	86,07	4,25
	t2	3,77*	0,37	11,22*	1,16	85,97	4,15
	t3	3,52	0,21	10,65	0,46	86,98	2,44
Ringer	t1	4,21	0,29	12,98	1,01	89,12	1,63
	t2	3,83*	0,19	11,88*	0,50	88,72*	1,90
	t3	4,11	0,31	12,03	1,16	88,93	2,12

		Hkt [%]		Plt [1000/μL]		MPV [fl]	
		MW	STD	MW	STD	MW	STD
Voluven	t1	33,93	4,47	173,83	49,92	8,77	1,23
	t2	28,40*	2,86	148,50*	45,39	8,65	1,25
	t3	30,92	2,53	174,17	50,64	22,70	33,49
HES	t1	36,74	2,34	221,67	46,20	8,98	1,10
	t2	32,39*	3,44	160,56*	80,40	8,87	1,00
	t3	30,63	1,66	138,17	48,23	9,25	1,43
Ringer	t1	37,53	2,76	185,67	80,42	8,40	0,93
	t2	33,95*	1,91	171,50*	61,20	8,42	0,83
	t3	36,53	3,17	215,67	98,67	8,92	1,60

**Tabelle 30 Zelldifferential im Vollblut. Prozentuale Veränderung der Parameter an den Messzeitpunkten t2 und t3 zu t1 (t2/t1; t3/t1). Messzeitpunkte und Abkürzungen siehe Tabelle 29.**

		RBC [%]		Hb [%]		MCV [%]	
		MW	STD	MW	STD	MW	STD
Voluven	t2/t1	84,36	5,94	85,47	7,18	99,01	0,87
	t3/t1	93,10	15,83	94,63	16,83	99,48	1,15
HES	t2/t1	88,21	7,28	88,05	6,30	99,89	0,22
	t3/t1	82,70	6,72	83,97	6,54	101,16	2,49
Ringer	t2/t1	91,20	6,93	91,79	4,71	99,55	6,43
	t3/t1	97,52	3,41	92,95	8,99	99,79	0,83

		Hkt [%]		Plt [%]		MPV [%]	
		MW	STD	MW	STD	MW	STD
Voluven	t2/t1	84,24	6,63	85,03	8,91	98,65	2,33
	t3/t1	92,68	16,27	100,97	15,29	262,41	390,62
HES	t2/t1	88,12	7,33	91,53	12,41	98,83	2,31
	t3/t1	83,65	6,87	62,31	14,35	102,94	9,15
Ringer	t2/t1	90,79	6,91	97,71	15,96	100,47	6,93
	t3/t1	98,31	3,51	119,51	39,10	106,51	17,63

Wie in Tabelle 29 dargestellt, kam es in allen Gruppen zwischen t1 und t2, d.h. nach Volumengabe, zu einem signifikanten Abfall des Hb, RBC, Hkt und Plt. Das MCV nahm sowohl in der Voluven- als auch in der Ringer-Gruppe signifikant ab, jedoch nicht in der HES-Gruppe. Zu einem leichten, jedoch nicht signifikanten Abfall kam es im MPV.

In Tabelle 30 sind die prozentualen Veränderungen des Zelldifferentials im Vollblut an den Messzeitpunkten t2 und t3 zu t1 dargestellt.



### 3.1.7. Infusionsvolumen

**Tabelle 31** Infusionsvolumen in Abhängigkeit von Gruppenzugehörigkeit. MW=Mittelwert, STD=Standardabweichung. Statistik: \* = Signifikanz  $p < 0,05$  gegenüber Voluven als auch Ringer. ^ = Signifikanz  $p < 0,05$  gegenüber Voluven.

	HES 130 [ml]		HES 200 [ml]		Ringer [ml]		EK [ml]	
	MW	STD	MW	STD	MW	STD	MW	STD
Voluven-Gruppe	1666,67	408,25	0	0	2583,33	1497,22	200	309,84
HES-Gruppe*	0	0	3583,33	1393,44	4433,33	1589,55	1300^	1148,91
Ringer-Gruppe	0	0	0	0	6183,33	2078,86	300	502

**Tabelle 32** Geschätzter Blutverlust in Abhängigkeit von Gruppenzugehörigkeit. MW=Mittelwert, STD=Standardabweichung.

	Geschätzter Blutverlust [ml]	
	MW	STD
Voluven-Gruppe	858,33	352,73
HES-Gruppe	3616,67	2689,55
Ringer-Gruppe	1116,67	957,95

Die Gesamtinfusionsvolumina in der HES-Gruppe waren signifikant größer als in den beiden anderen Gruppen (siehe Tabelle 31), ebenso der geschätzte Blutverlust, wie dies in Tabelle 32 aufgeführt und in Abbildung 19 graphisch dargestellt ist. Die Gabe von Erythrozytenkonzentraten war in der HES-Gruppe im Vergleich mit der Voluven-Gruppe ebenfalls signifikant höher (siehe Abbildung 18).

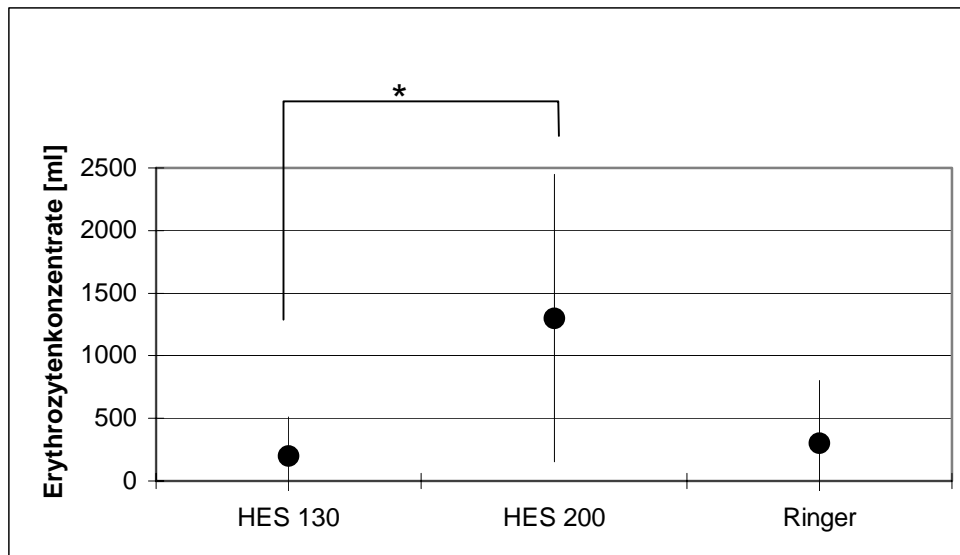


Abbildung 18 Erythrozytenkonzentration in ml in Abhängigkeit von Gruppenzugehörigkeit. \* p<0,05

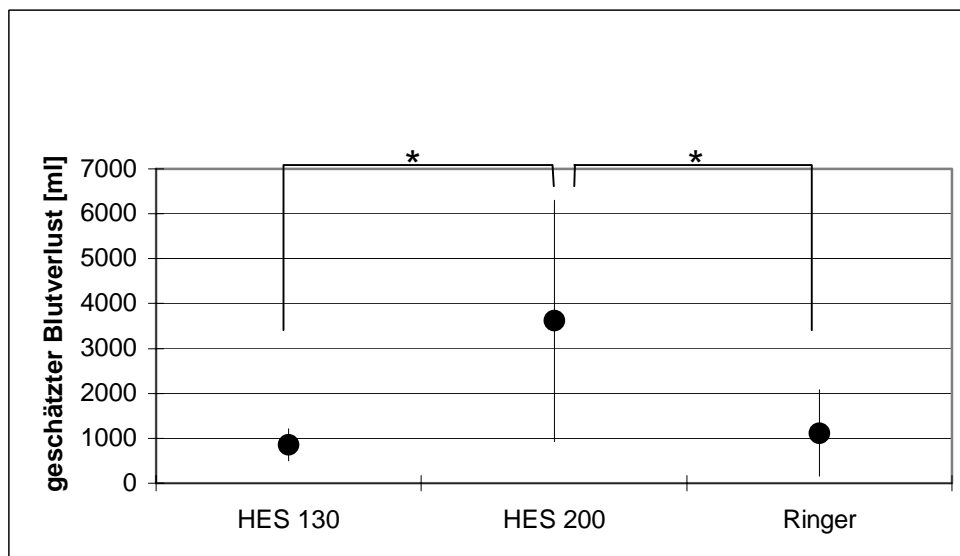


Abbildung 19 Geschätzter Blutverlust in ml in Abhängigkeit von Gruppenzugehörigkeit. \* p<0,05

### 3.2. In-vitro Studie

#### 3.2.1. Impedanzaggrometrie nach CARDINAL und FLOWER

**Tabelle 33** Impedanzaggrometrie (nach Cardinal/Flower) in Abhängigkeit von Gruppenzugehörigkeit. MW=Mittelwert, STD=Standardabweichung.

	Steigung [Ohm/min]		Max. Aggregation [Ohm]	
	MW	STD	MW	STD
Voluven	2,43	1,48	9,25	4,96
HES	2,77	1,70	9,60	4,58
NaCl 0,9%	2,72	2,03	9,67	5,99

In Tabelle 33 sind die Parameter *Steigung* und *maximale Aggregation* in Abhängigkeit von Gruppenzugehörigkeit aufgeführt.

Es ergaben sich keine signifikanten Veränderungen im Vergleich der Gruppen untereinander bezüglich der Impedanzaggrometrie.

#### 3.2.2. Thrombelastographie

**Tabelle 34** Thrombelastographie (nach Hartert) in Abhängigkeit von Gruppenzugehörigkeit. MW=Mittelwert, STD=Standardabweichung. \* = Signifikanz  $p < 0,01$  gegenüber NaCl. ^ = Signifikanz  $p < 0,05$  gegenüber NaCl.

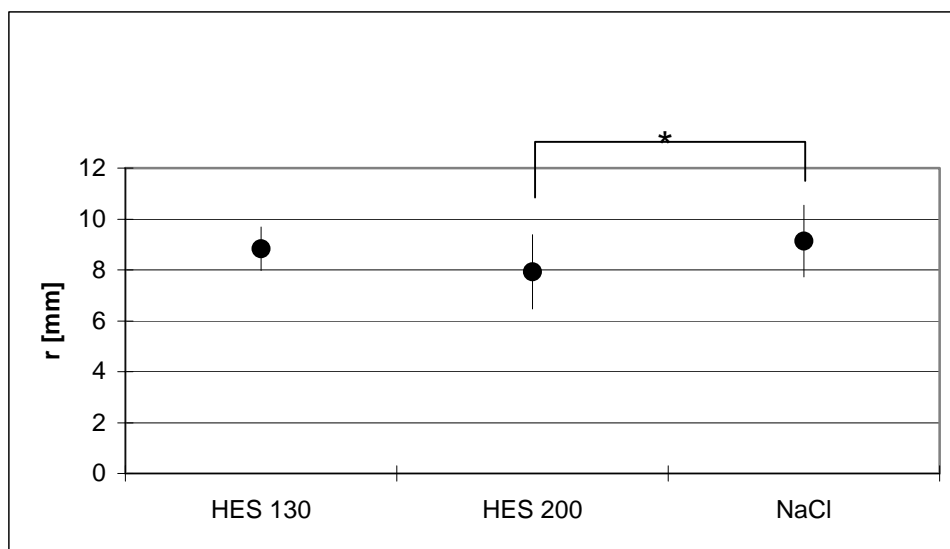
	r [mm]		r+k [mm]		MA [mm]	
	MW	STD	MW	STD	MW	STD
Voluven	8,83	0,86	15,58	3,02	33,08*	5,93
HES	7,92^	1,46	14,00	2,27	34,08*	4,52
NaCl 0,9%	9,13	1,40	14,50	2,55	41,08	5,53

In Tabelle 34 sind die Parameter *r*, *r+k* und *MA* in Abhängigkeit von der Gruppenzugehörigkeit aufgeführt.

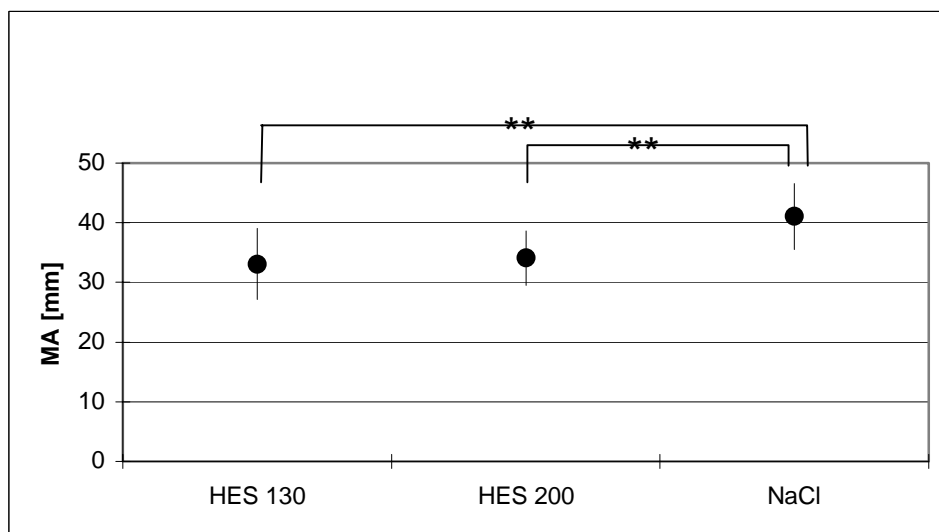
Im Vergleich zwischen der Voluven-Gruppe mit der HES-Gruppe ergaben sich keine signifikanten Änderungen.

Im Vergleich zwischen der Voluven-Gruppe mit der NaCl-Gruppe kam es zu hochsignifikanten ( $p < 0,01$ ) Veränderungen in der Maximalaggregation (MA) (siehe Abbildung 21).

Zwischen der HES- und der NaCl-Gruppe kam es ebenfalls zu hochsignifikanten Veränderungen in der MA (siehe Abbildung 21) und zu signifikanten ( $p < 0,05$ ) Veränderungen bei der *Reaktionszeit* ( $r$ ) (siehe Abbildung 20).



**Abbildung 20** Thrombelastographie (nach Hartert). Veränderung des Parameters  $r$  in Abhängigkeit von Gruppenzugehörigkeit. \* =  $p < 0,05$



**Abbildung 21** Thrombelastographie (nach Hartert). Veränderung des Parameters  $MA$  in Abhängigkeit von Gruppenzugehörigkeit. \*\* =  $p < 0,01$

### 3.2.3. In-vitro Blutungstest mit ADP als Agonist

**Tabelle 35** In-vitro Blutungstest in Abhängigkeit von Gruppenzugehörigkeit. MW=Mittelwert, STD=Standardabweichung.

	Okklusionszeit [sec]	
	MW	STD
Voluven	180,45	56,38
HES	168,92	34,11
NaCl 0,9%	186,36	45,79

In Tabelle 35 ist der Parameter Okklusionszeit in Abhängigkeit von der Gruppenzugehörigkeit aufgeführt.

Es ergaben sich keine signifikanten Veränderungen im Vergleich der Gruppen untereinander bezüglich des in-vitro Blutungstests.

### 3.2.4. Induzierte Thrombozytenaggregation im plättchenreichen Plasma

#### 3.2.4.1. Induktor: ADP

**Tabelle 36** Induzierte Thrombozytenaggregation mit ADP im plättchenreichen Plasma in Abhängigkeit von Gruppenzugehörigkeit. MW=Mittelwert, STD=Standardabweichung.

	Steigung [Ohm/min]		Max. Aggregation [Ohm]	
	MW	STD	MW	STD
Voluven	8,50	1,93	22,68	6,07
HES	12,93	3,28	19,16	4,79
NaCl 0,9%	11,37	4,45	18,25	7,49

In Tabelle 36 sind die Parameter Steigung und maximale Aggregation in Abhängigkeit von der Gruppenzugehörigkeit aufgeführt.

Es gab keine Signifikanzen im Vergleich der Gruppen untereinander.

### 3.2.4.2. Induktor: Ristozetin

**Tabelle 37** Induzierte Thrombozytenaggregation mit Ristozetin in plättchenreichen Plasma in Abhängigkeit von Gruppenzugehörigkeit. MW=Mittelwert, STD=Standardabweichung. Statistik: \* = Signifikanz  $p < 0,05$  gegenüber NaCl.

	Steigung [Ohm/min]		Max. Aggregation [Ohm]		Schwellenwert [ $\mu$ L]	
	MW	STD	MW	STD	MW	STD
Voluven	8,77	3,88	29,53	5,60	2,89*	0,78
HES	8,73	2,17	25,16	6,79	3,11*	0,60
NaCl 0,9%	8,62	1,20	26,17	3,61	3,92	1,08

In Tabelle 37 sind die Parameter Steigung, maximale Aggregation und Schwellenwert in Abhängigkeit von der Gruppenzugehörigkeit aufgeführt.

Signifikante Unterschiede ergaben sich beim Vergleich der Schwellenwerte zwischen den Gruppen Voluven vs. NaCl und HES vs. NaCl.

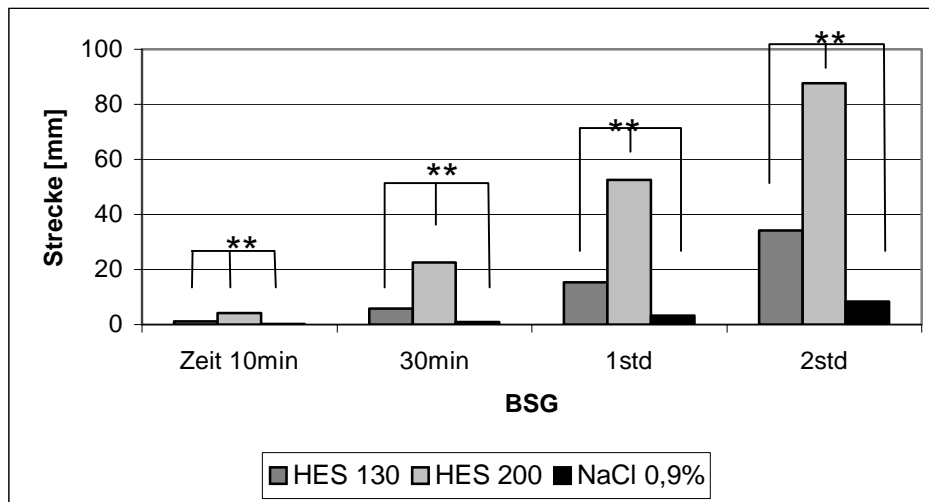
### 3.2.5. Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit

**Tabelle 38** Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit in Abhängigkeit von Gruppenzugehörigkeit. BSG=Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit. MW=Mittelwert, STD=Standardabweichung. \* = Signifikanz  $p < 0,01$  gegenüber Voluven. ^ = Signifikanz  $p < 0,01$  gegenüber HES. ° = Signifikanz  $p < 0,01$  gegenüber NaCl.

	BSG 10min [mm]		BSG 30min [mm]		BSG 1h [mm]		BSG 2h [mm]	
	MW	STD	MW	STD	MW	STD	MW	STD
Voluven	1,14*^°	0,84	5,73*^°	3,47*^°	15,36*^°	7,13	34,09*^°	11,83
HES	4,09*^°	2,95	22,55*^°	10,82*^°	52,55*^°	18,17	87,64*^°	27,15
NaCl 0,9%	0,18*^°	0,40	0,82*^°	0,90*^°	3,32*^°	2,33	8,36*^°	5,45

In Tabelle 38 ist die Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit nach 10 Minuten, 30 Minuten, 1 Stunde und 2 Stunden in Abhängigkeit von der Gruppenzugehörigkeit dargestellt.

Die BSG weist zu jedem Zeitpunkt bei den Vergleichen mit Voluven vs. HES, Voluven vs. NaCl und HES vs. NaCl hochsignifikante ( $p < 0,01$ ) Unterschiede auf (siehe Abbildung 22).



**Abbildung 22** Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit nach 10 Minuten, 30 Minuten, 1 Stunde und 2 Stunden in Abhängigkeit der Gruppenzugehörigkeit. Die Balken stellen die Mittelwerte dar. \*\*  $p < 0,01$

## 4. Diskussion

### 4.1. *Diskussion der Ergebnisse und Methoden*

Ziel der vorgelegten Arbeit war es, die Einflüsse zwei verschiedener Hydroxyethylstärken (HES 6%, MW 200/0,5 und HES 6%, MW 130/0,4) und Ringer-Lösung bzw. NaCl 0,9% auf die Thrombozytenfunktion zu untersuchen. Dabei sollte geklärt werden, ob HES 130 einen günstigeren Einfluss auf die Aktivität der Thrombozyten hat als HES 200. Dafür standen vor allem die funktionellen Messtechniken zur Untersuchung der Thrombozytenaktivität im Vordergrund. Die Wirkung von HES auf die Thrombozytenaktivität sollte sowohl im Gesamtorganismus (klinische Studie) als auch isoliert und damit ohne Einfluss der im Organismus stattfindenden Vorgänge (in-vitro Studie) untersucht werden. Ein weiterer Aspekt der Arbeit war in der klinischen Studie das zirkulierende Blutvolumen zu quantifizieren.

Als das vorliegende Präparat der HES 130 auf dem deutschen Markt eingeführt wurde, versprach man sich davon, dass es zum einen weniger hochmolekulare, hochsubstituierte, rheologisch ungünstige Bestandteile und zum anderen kaum kleine, primär nierengängige Teilchen enthält und somit zu einer schnellen initialen Volumenwirkung und zu keiner Beeinflussung der Hämostase kommt. Unsere Untersuchung beschränkte sich auf den Einsatz bei radikalen Prostatektomien und Adenomektomien. Hier bestehen besondere Probleme durch den hohen Blutverlust, sowie Gerinnungsstörungen infolge einer Aktivierung der Fibrinolyse.

Die empfohlene maximale Tagesdosis für Hydroxyethylstärkelösungen beträgt nach Herstellerangaben  $33 \text{ ml} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ . Die Empfehlungen einer Dosisbegrenzung wird durch die Interaktion mit den Funktionen der plasmatischen und der thrombozytären Gerinnung sowie der Fibrinolyse begründet. Das Studiendesign der vorliegenden Arbeit beinhaltet keine Dosisbegrenzung für Hydroxyethylstärke. Gründe hierfür sind zum einen die Tatsache, dass sich die empfohlene maximale Tagesdosis auf die 1974 eingeführte HES (MW 450) bezieht und sie sich zum anderen an der maximalen Tagesdosis für Dextranen orientierte.



In früheren Untersuchungen wurde festgestellt, dass HES-Lösungen abhängig vom mittleren Molekulargewicht, dem molaren Substitutionsgrad und der C2/C6 ratio die Blutgerinnung beeinflussen können (Treib, 1996a,b). Entholzner berichtete in einer in-vitro Studie über die geringere Beeinflussung der Thrombozytenfunktion durch HES 130 im Vergleich zu HES 200 und HES 450 (Entholzner, 2000). Bei der vorliegenden Präparation von HES 130 wurde die C2/C6 ratio gegenüber HES 200 von 5:1 auf 9:1 angehoben. Der Substitutionsgrad wurde gegenüber HES 200 von 0,5 auf 0,4 gesenkt. HES 130 besitzt gegenüber HES 200 eine veränderte Molekulargewichtsverteilung. Der Mittelwert der Spitzenfraktion, d.h. große rheologisch und hämostasiologisch ungünstige Moleküle, ist gering. Ebenso gering ist der Mittelwert der Bodenfraktion und damit der Anteil der Moleküle, der unterhalb der Nierenschwelle liegt und schnell ausgeschieden wird.

Bei der Beurteilung des Einflusses von Kolloiden auf die Gerinnungsparameter müssen verschiedene Aspekte berücksichtigt werden:

- Absolute Abnahme der plasmatischen und zellulären gerinnungsaktiven Bestandteile des Blutes durch Blutverlust („Verlustkoagulopathie“)
- Relative Abnahme der plasmatischen und zellulären gerinnungsaktiven Bestandteile durch Hämodilution nach Kolloidgabe („Dilutionskoagulopathie“)
- Mögliche direkte Interaktion von Kolloiden mit Gerinnungsfaktoren („Medikamentös-induzierte plasmatische Gerinnungsstörung“)
- Mögliche direkte Interaktion von Kolloiden mit Thrombozyten („medikamentös-induzierte Thrombozytopathie“)

Thrombozyten spielen eine herausragende Rolle in der primären Hämostase. Die Adhäsion der Thrombozyten an subendotheliales Kollagen und von Willebrand-Faktor (vWF) und die anschließende Aggregation durch Fibrinogen sind grundlegend für die Thrombusbildung bei vaskulären Verletzungen. Der Platelet Function Analyzer (PFA) misst die primäre thrombozytäre Hämostase, indem er eine mikrovaskuläre Verletzung simuliert. Die Okklusionszeit bezeichnet die Zeit vom Beginn der Messung bis zum Verschluss der „Kapillare“ durch einen Thrombus. Die Plättchenaggregation ist hauptsächlich vom vWF abhängig (Poujol, 1998).

Nach Infusion von 1000 ml HES- bzw. 2000 ml Ringer-Lösung (t2) kam es in allen Gruppen zu einer verlängerten Okklusionszeit im PFA-100-System. Statistisch nicht signifikant, jedoch

am deutlichsten, war dies unter HES zu sehen. Da die Okklusionszeit abhängig von der Interaktion zwischen Thrombozytenmembranrezeptoren Glykoprotein IIb/IIIa (GP IIb/IIIa), GP Ib und deren Liganden, wie zum Beispiel Fibrinogen und vWF (Kundu, 1995) ist, könnte dies bedeuten, dass es nach Gabe von HES-Lösung entweder zu einer erniedrigten Expression von GP IIb/IIIa-Rezeptoren kommt oder Fibrinogen bzw. vWF nicht zur Verfügung stehen.

Der theoretische Hintergrund dieser Annahme bezieht sich auf die Prinzipien der zellulären Hämostase, die hier in kurzen Zügen Erwähnung finden sollen: Wird Endothel geschädigt, so werden die darunter liegenden Kollagenschichten freigelegt. Der Thrombozyt wird nun durch elektrostatische Kräfte angezogen. Diesen Vorgang nennt man Plättchenadhäsion, der Faktor-VIII-Komplex abhängig ist. Der Faktor-VIII-Komplex (FVIII/vWF) besteht zu 1% aus dem antihämophilen Faktor (VIII) und zu 99% aus dem von Willebrand-Faktor. Der von Endothelzellen der Blutgefäße oder Megakaryozyten gebildete von Willebrand-Faktor bildet eine Brücke zwischen Thrombozyt und Gefäßendothel, denn er bindet sowohl auf der einen Seite mit dem Glykoprotein (GP) - Ib/IX-Komplex der Thrombozytenmembran als auch auf der anderen Seite mit den subendothelialen Gewebestrukturen. Der Von-Willebrand-Faktor ist besonders unter Flussbedingungen und hohen Scherraten ( $>800/s$ ), wie man sie in kleinen Arterien in der Mikrozirkulation findet, wichtig für die Adhäsion von Thrombozyten am Endothel.

Kollagen bindet am Thrombozyten über den GP IV- und den GP Ia/IIa-Komplex und löst eine Reihe von Folgereaktionen am Thrombozyten aus: Es kommt zur Formveränderung mit Ausbildung von Pseudopodien, Sekretion von Adenosindiphosphat (ADP) und Kalzium, welche die weitere Thrombozytenaggregation an die schon adhärenierten Thrombozyten induzieren. Die Voraussetzung für die Thrombozytenaggregation ist die Umorganisation des GP IIb/IIIa-Komplexes, an den Fibrinogen bindet, welches somit eine Brücke zwischen zwei Thrombozyten bildet. An dieser Brückenbildung ist der Von-Willebrand-Faktor ebenso beteiligt, aber in einem erheblich geringeren Maße. Der aus Thrombozyten gebildete Pfropf (Thrombus) bekommt seine Festigkeit durch Einlagerung von Fibrin (Heemskerk, 2002; Monroe, 2002; Mammen, 1998).

Auf die Möglichkeit einer erniedrigten Expression von GP IIb/IIIa auf dem Thrombozyten deuten die Ergebnisse von Franz et al hin. Sie zeigten am Durchflusszytometer, dass es in-vivo nach Infusion von HES 200 zu einer geringeren Expression von GP IIb/IIIa kommt als

nach Infusion von HES 130. Weiterhin zeigte diese Studie, dass HES 450 und HES 70 ähnliche Effekte auf die Expression von GP IIb/IIIa haben wie HES 200. Die Annahme der Molekülgröße als einziger Einflussfaktor auf die Expression von GP IIb/IIIa lässt sich damit nicht bestätigen. Der Substitutionsgrad der Studienlösungen lag bei HES 450, 200 und 70 höher (0,5-0,8) als der von HES 130 (0,4). Möglicherweise ist dies ein weiterer Aspekt der Beeinflussung von HES-Infusionen auf die Blutgerinnung, zum Beispiel durch einen verzögerten Abbau der Hydroxyethylstärke durch Amylase und der damit verbundenen längeren intravasalen Verweildauer (Franz, 2001). Stöger Müller beschrieb bei der Untersuchung von HES 200 und NaCl in-vivo und in-vitro auf die Expression von GP IIb/IIIa ähnliche Ergebnisse. Dabei schließt diese Arbeitsgruppe einen unspezifischen „coating effect“ der Thrombozyten durch HES aus, denn die Expression von GP Ib auf den Thrombozyten wurde nach Hinzugabe von HES nicht verändert, wogegen es zu einer geringeren Expression von GP IIb/IIIa kam (Stöger Müller, 2000).

Postoperativ (t3) kam es im Zeitverlauf in allen Gruppen zu einer signifikant verkürzten Okklusionszeit, allerdings ohne Unterschied zwischen den Gruppen. Die verkürzte Okklusionszeit deutet auf eine erhöhte hämostatische Aktivität hin. Nach größeren chirurgischen Eingriffen kommt es oft zu einem latenten Verbrauch von Gerinnungsfaktoren durch einen Zustand erhöhter Blutgerinnung [Hyperkoagulabilität] (Felfernig-Boehm, 2001; Hobisch, 1999). Hier konnten keine Unterschiede zwischen den verwendeten Infusionslösungen und deren Wirkungen auf die primäre Hämostase festgestellt werden. Diese Aussage korrelierte mit den Angaben der Operateure. Trotz großer Blutverluste bei vereinzelt Patienten in der HES 200-Gruppe wurde nichts über diffuse Blutungen aus den Wundflächen berichtet, ein Zustand, der auf eine intakte primäre Hämostase schließen lässt. Der erhöhte Blutverlust sei vielmehr auf schwierigere chirurgische Bedingungen bei diesen Patienten zurückzuführen. Die erhöhte hämostatische Aktivität ist, wie oben bereits erwähnt, am ehesten auf die Operation zurückzuführen.

Die in-vitro Studie zeigte keine signifikanten Veränderungen zwischen den Gruppen. In diesem Zusammenhang ist zu erwähnen, dass, im Gegensatz zur klinischen Studie, nur mit Kollagen/ADP-beschichteten Patronen gearbeitet werden konnte. Die Okklusionszeit der Kollagen/Epinephrin-beschichteten Patronen wurde regelmäßig überschritten, sodass sie aus der Studie herausgenommen wurden. Blaicher et al beobachteten in einer in-vitro Studie eine Abnahme der Kollagen/Epinephrin induzierten Plättchenaggregation nach steigender HES

Konzentration, während die Kollagen/ADP-induzierte Plättchenaggregation unverändert blieb (Blaicher, 1998). Nicht aufgeklärt werden konnte die Frage, ob dieser Effekt in unserer Studie HES-induziert ist oder ob es sich bei der überschrittenen Verschlusszeit um den relativ großen Dilutionseffekt handelt, da die verlängerte Verschlusszeit sowohl in den beiden HES-Gruppen als auch unter Kochsalz auftrat.

In der TEG kam es ebenfalls nach Infusion von 1000 ml HES- bzw. 2000 ml (t2) Ringer zu einem verzögerten Beginn der Gerinnungsreaktion (r), einer verzögerten Gerinnselfestigkeitszeit (r+k) und einer Abnahme der maximalen Gerinnselfestigkeit (MA) in allen Gruppen. Hier zeigten sich statistisch signifikante Unterschiede sowohl zwischen HES und Ringer als auch zwischen Voluven und Ringer.

Die Parameter Gerinnungsreaktion (r), Gerinnselfestigkeitszeit (r+k) und maximale Gerinnselfestigkeit (MA) sind abhängig von der Thrombozytenzahl und der Thrombozytenfunktion. Die durchschnittliche Thrombozytenzahl in den beiden HES Gruppen nahm im Vergleich mit der Ringer-Gruppe signifikant ab. Jamnicki et al untersuchten den Einfluss von HES 200 und HES 70 in-vivo auf die Thrombozytenfunktion in der TEG. In deren Studie ergaben sich nach Infusion von HES 15 ml/kg KG, was in etwa unserem Infusionsvolumen zum Zeitpunkt t2 entspricht, keine Unterschiede in der Abnahme der Thrombozytenzahl zwischen beiden Infusionslösungen, jedoch zeigte sich ein geringerer Einfluss von HES 70 auf die Parameter der TEG eine halbe Stunde nach Infusion. Es kam darüber hinaus zu einer deutlich geringeren Abnahme der vWF-Aktivität und Faktor-VIII Konzentration eine halbe Stunde nach HES 70 (Jamnicki, 2000). Den Einfluss der Molekülgröße auf die vWF-Aktivität und Faktor VIII-Konzentration beschrieben Strauss et al. Es zeigte sich nach hochmolekularer HES-Infusion eine größere Abnahme des vWF als nach mittelmolekularer HES-Infusion (Strauss, 1988).

In dieser vorgelegten Arbeit ergaben sich keine Unterschiede zwischen HES 200 und HES 130, sodass man annehmen kann, dass nach Gabe von 1000 ml HES 200 oder HES 130 keine Unterschiede bezüglich ihrer Einflüsse auf die Thrombozytenfunktion auftreten, die sich in der TEG widerspiegeln. Ein Zustand erhöhter Blutgerinnung nach Gabe von isotoner Kochsalzlösung, wie dies von Ruttman und Ng beschrieben wurde, konnte nicht beobachtet werden (Ruttman, 1998; Ng, 2002). Ursache hierfür könnte das größere von uns substituierte Volumen von 2000 ml Ringer-Lösung sein, während Ruttman 1000 ml NaCl und Ng 14 ml/kg infundierten. Ein weiterer zu berücksichtigender Aspekt ist der unterschiedliche Elektrolytgehalt von isotoner Kochsalzlösung und Ringer-Lösung. Isotone Kochsalzlösung

hat im Vergleich zur Ringer-Lösung einen höheren Gehalt an Natrium. Agam zeigte, dass die Thrombozytenaggregation im natriumreichen Medium signifikant höher ist als die Aggregation im natriumarmen Medium. Weiterhin beobachtete er, je höher die Konzentration an Thrombin war, desto größer wurde die Zunahme der natriumabhängigen Aggregation (Agam, 1989).

Isotone Kochsalzlösung hat im Vergleich zu Ringer-Lösung keinen Kalium-Anteil in ihrer Elektrolytzusammensetzung. Lin beschrieb in seiner Arbeit den hemmenden Effekt akut ansteigenden Plasmakaliums auf Koronararterienthrombose. Darüber hinaus verringere Kalium die Wirkung von Adrenalin auf die Thrombusbildung (Lin, 1994). Die Kaliumkonzentration wurde in Lins Studie im oberen physiologischen Bereich gehalten. In unserer Arbeit liegen keine Daten zu den Kaliumkonzentrationen an den drei Messzeitpunkten vor. Die Blutabnahme zum Messzeitpunkt 2 (t2) erfolgte direkt im Anschluss an die Infusionsgabe. Es wäre durchaus möglich Kaliumkonzentrationen anzunehmen, die im oberen Bereich der physiologischen Norm liegen.

Postoperativ kam es zu einer reduzierten Gerinnselfestigkeit – repräsentiert von der maximalen Amplitude in der TEG - der HES 200-Gruppe, während die Ergebnisse in den anderen beiden Gruppen annähernd präoperative Werte annahmen. Der massive Blutverlust in der HES 200-Gruppe und der damit erhöhte Bedarf an Erythrozytenkonzentraten, HES 200 und Ringer-Lösung erschwerten die differenzierte Beurteilung der Effekte zwischen der allgemeinen Volumensubstitution und der isolierten Wirkung von HES 200.

Die Thrombelastographie gibt als globaler Gerinnungstest einen Überblick über den gesamten Gerinnungsprozess. Sie erfasst sowohl die plasmatischen Gerinnungsfaktoren als auch die Thrombozytenfunktion. Anders verhält sich die in-vitro Blutungszeit. Hier handelt es sich um eine scherkraftinduzierte Aggregation, die im Wesentlichen die primäre Hämostase widerspiegelt und damit thrombozytenabhängig ist. Während die in-vitro Blutungszeit bei diffusen Blutungen aus großen Wundflächen Bedeutung hat, können postoperative Nachblutungen durch eine geringere Gerinnselfestigkeit durch die Thrombelastographie erfasst werden. Über den postoperativen Blutverlust liegen in dieser Arbeit keine Daten vor. Bei allen Patienten verlief der postoperative Verlauf komplikationslos, sodass von keinen größeren postoperativen Blutverlusten ausgegangen werden muss.

Der klinische Nutzen der Thrombelastographie ist begrenzt. Wie bereits erwähnt, findet die TEG unter einigen ausgewählten klinischen Bedingungen Anwendung. So wurden

Veränderungen der MA in der TEG mit hohen intraoperativen Blutverlusten in Verbindung gebracht (Whitten, 2000). Die Genauigkeit der MA und deren negativer Vorhersagewert bei hohen Blutverlusten nach herzchirurgischen Eingriffen wurden in einigen Studien belegt (Tuman, 1989; Mongan, 1992; Spiess, 1995). Dies könnte eine angemessene und frühzeitige Therapie bei intraoperativen Blutungen erleichtern.

Die Arbeitsgruppe um Sharma konnte bei präeklampsischen Patientinnen nicht verifizieren, ob die Abnahme der MA durch veränderte Thrombozytenfunktion oder durch Änderungen der Gerinnungsfaktoren zu erklären sei (Sharma, 1999). Auch in dieser vorgelegten Arbeit bleibt unklar, welche klinische Relevanz die in der Thrombelastographie gemessene reduzierte MA im Hinblick auf die Hämostase hat.

In der in-vitro Studie kam es in der TEG zu einer gering verkürzten r-Zeit in der HES 200-Gruppe.

Im Vergleich mit HES 130 und NaCl beschreibt die verkürzte r-Zeit in der HES 200 Gruppe eine erhöhte Gerinnungsaktivität. Die r-Zeit misst die Zeit nach Gabe der Blutprobe in die Küvette bis zur ersten Fibrinbildung. HES 200 mit einem höheren Molekulargewicht und einem höheren Substitutionsgrad als HES 130 scheint eine größere Wirkung auf die erste Phase der Gerinnung im TEG, also auf die plasmatische Gerinnung, zu haben.

Die MA war in der NaCl Gruppe im Vergleich mit den beiden Kolloidlösungen hochsignifikant erhöht. Zahlreiche Studien belegen eine Abnahme der MA unter Hämodilution mit HES (Niemi, 1998; Konrad, 1999; Jamnicki, 1998; Entholzner, 2000). Dies war ebenfalls in unserer in-vitro Studie zu beobachten. Es zeigten sich aber keine Unterschiede zwischen HES 200 und HES 130.

In dieser Arbeit diente die NaCl-Gruppe als Kontrollgruppe gegenüber den Kolloidgruppen unter der Annahme, NaCl habe keine Auswirkungen auf die Blutgerinnung. Es wurde kürzlich gezeigt, dass NaCl 0,9% die Blutgerinnung steigert, indem es die Plättchenaggregation erhöht und die Antithrombin III-Konzentration verringert (Ruttmann, 1999).

Ruttmann et al zeigten in-vitro eine erhöhte Gerinnungsaktivität nach Hämodilution per se. Es fanden sich keine Unterschiede zwischen der Hämodilution mit isotoner Kochsalzlösung und Gelatine (Haemaccel®) in der r-Zeit. Beide Infusionslösungen hatten jedoch eine Abnahme der r-Zeit im Vergleich mit der unverdünnten Kontrollgruppe zur Folge. Die

Gerinnselfestigkeit (MA) war unter isotoner Kochsalzlösung, verglichen mit der unverdünnten Kontrollgruppe, erhöht, unter Gelatine zeigte sich jedoch keine Veränderung gegenüber der Kontrollgruppe (Ruttmann, 1996). In unserer Arbeit stellte sich eine verlängerte r-Zeit und eine Abnahme der MA unter Kochsalzlösung ein. Die Unterschiede lassen sich durch die Studiendesigns erklären. Das in unserer in-vitro Studie angewandte Studiendesign unterscheidet sich in folgenden Punkten von Ruttmann:

1. Wir verglichen zwischen HES 200, HES 130 und NaCl 0,9%. Es gab keine unverdünnte Kontrollgruppe.
2. Wir führten eine Hämodilution von 50% isotoner Kochsalzlösung durch, Ruttmann eine Hämodilution von 20%. Dies könnte die verlängerte r-Zeit in unserer Studie erklären. Die höhere Verdünnung führte zu einer relativ größeren Abnahme der Gerinnungsfaktoren als dies bei Ruttmann zu erwarten war. Dadurch wird die Zeit bis zum Beginn der Gerinnung länger. Die r-Zeit misst die Zeit nach Gabe der Blutprobe in die Küvette bis zur ersten Fibrinbildung. Es bleibt unklar, ob die verlängerte r-Zeit eine erhöhte Fibrinaktivität ausschließt oder ob die verwandte Verdünnung ein mechanisches Hindernis für eine kürzere r-Zeit darstellt.
3. Unsere Blutproben wurden auf einen Hämatokrit von 0,3 verdünnt, um Einflüsse des Hämatokrit auf die Blutgerinnung zu vermeiden. Diese zeigen sich einerseits in der Hämorrheologie durch veränderte Blutviskosität und folglich durch einen veränderten Blutfluss und andererseits auch durch Wechselwirkung zwischen Thrombozyten und Erythrozyten (Ouaknine-Orlando, 1999; Dietrich, 1995). Ein niedriger Hämatokrit vermindert die Blutviskosität und führt zu einem höheren Blutfluss und folglich zu einer längeren Reaktionszeit r im TEG.

Sowohl in unserer Arbeit als auch bei Ruttmann zeigte sich eine signifikant erhöhte MA unter Hämodilution mit NaCl 0,9% (Ruttmann, 1996). Eine Erklärungsmöglichkeit für die erhöhte Gerinnselfestigkeit ist das Missverhältnis zwischen Thrombin und Antithrombin mit einer relativen Abnahme der Antithrombinkonzentration (Monkhouse, 1959).

Ruttmann vermutet, dass Hämodilution zu einer ungehinderten Thrombinbildung führt und damit einen Trigger für die weitere Gerinnungskaskade darstellt. Thrombozyten spielen im Hinblick auf die erhöhte MA eine untergeordnetere Rolle, denn trotz Hemmung der Cyclooxygenase durch Aspirin ließen sich ähnliche Effekte durch Hämodilution erzielen, die mit einer Erhöhung der MA einhergingen (Ruttmann, 1999).

Petroianu et al belegten in einer in-vitro Studie eine Zunahme der Blutgerinnung unter 20%iger Hämodilution mit Ringer-Lösung und eine Abnahme der Blutgerinnung unter 50%iger Hämodilution. Die Abnahme der Blutgerinnung wurde auf den Dilutionseffekt zurückgeführt (Petroianu, 2000).

Die durchschnittliche Thrombozytenzahl zum Zeitpunkt t1 betrug  $193,7 \cdot 1000/\mu\text{L}$ . Es ergaben sich keine statistischen Unterschiede zwischen den drei Gruppen. Zum Zeitpunkt t2 kam es nach Gabe der Infusionslösungen in allen Gruppen zu einem signifikanten Abfall der Thrombozytenzahl, die postoperativ (t3) annähernd auf die Ausgangswerte anstieg, außer in der HES 200 Gruppe. Dieser Wert könnte jedoch durch den größeren Blutverlust bei einigen Patienten in dieser Gruppe falsch interpretiert werden.

Der initiale Abfall der Thrombozytenzahl zum Zeitpunkt t2 war in den beiden HES-Gruppen deutlicher ausgeprägt als in der Ringer Gruppe. Er betrug für HES 200 91,5% des Ausgangswertes, für HES 130 85% und für Ringer 97,7%. In früheren Studien wurde bereits gezeigt, dass nach einmaligen HES Gaben die Thrombozytenzahl proportional zum Dilutionseffekt abnahm (Treib, 1996 a). Wir konnten, abgesehen vom Dilutionseffekt, keinen Effekt der HES-Lösungen bezüglich einer Reduktion der Thrombozytenzahl nach einmaliger Gabe der Lösung feststellen. Selbst nach mehrmaliger Gabe von HES, wie dies an Zeitpunkt t3 zutrifft, ist keine Wirkung bezüglich der Reduktion der Thrombozyten anzunehmen. Treib beschrieb in einer in-vitro Studie unter mehrtägiger Gabe von HES-Lösungen einen Abfall der Thrombozytenzahl unter dem Dilutionseffekt. Er führt dies auf einen erhöhten Abbau durch Phagozytose zurück, bedingt durch Anhaften von HES an den Thrombozyten. Dabei scheint die Affinität der Stärke zu den Thrombozyten und die Phagozytoserate vom Molekulargewicht bestimmt zu sein (Treib, 1996 a).

Der mittlere Hämoglobingehalt bei allen Patienten zum Zeitpunkt t1 betrug 12,4 g/dL ohne statistisch signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen. Nach Infusion von 1000 ml HES bzw. 2000 ml Ringer beobachteten wir einen dilutionsbedingten Abfall auf 91,8% des Ausgangswertes. Trotz nicht signifikanter Unterschiede zeigte sich bei HES 130 der größte Volumeneffekt mit 85,5% des Ausgangswertes, vor HES 200 mit 88,1% und Ringer mit 91,8%. Obwohl die Unterschiede innerhalb der drei Gruppen statistisch nicht signifikant sind, ist davon auszugehen, dass die beiden HES-Lösungen bezüglich ihrer Eigenschaften als Volumensubstitutionsmittel einen Vorteil gegenüber der Ringer-Lösung bieten. Wie auch Boldt et al sind wir der Ansicht, dass sich die beiden kolloidalen Lösungen hinsichtlich ihrer



Volumensubstitution und ihrer hämodynamischen Wirksamkeit nicht voneinander unterscheiden (Boldt, 2000).

Die induzierte Thrombozytenaggregation im plättchenreichem Plasma gehört zu den präzisesten Untersuchungsmethoden der Thrombozytenfunktion. Hier ist die Wahl der aggregationsauslösenden Substanzen und deren verwendete Konzentration von Bedeutung. In der vorgelegten Arbeit kamen Adenosindiphosphat (ADP) und Ristozetin zur Anwendung. ADP ist ein primärer Aggregationsauslöser und führt ab einer Konzentration von  $1,5\mu\text{M}$  zu einer irreversiblen Aggregation. Dabei wird die Anwesenheit von Kalziumionen und Fibrinogen und ein intakter Stoffwechsel der Thrombozyten vorausgesetzt (Krzywanek, 1987). ADP führt bei den Plättchen zu einem Verlust der diskoiden Form und zur Ausformung von Pseudopodien. Dabei aktiviert es den GP IIb/IIIa Rezeptor und die Bindung an Fibrinogen, was zur Aggregation führt (Blaicher, 1998). Die ristozetininduzierte Aggregation ist nicht kalziumabhängig und ist auch mit formalinfixierten Plättchen als sogenannte „Agglutination“ auslösbar (Krzywanek, 1987). Ristozetin wird zur Bindung des FVIII/vWF an seine Rezeptoren benötigt. Dabei ist der Grad der Bindung proportional zur Ristozetinkonzentration (Kao, 1983). In geringeren Dosen ( $0,8 - 0,9 \text{ mg/ml}$ ) fördert Ristozetin die Plättchenaggregation über GP IIb/IIIa (Heinrich, 1985).

Nach Infusion der Studienlösungen zum Zeitpunkt  $t_2$  kam es in der optischen Messung der Thrombozytenaggregation nach BORN unter der aggregationsfördernden Substanz ADP in allen drei Gruppen zu einem hochsignifikanten Abfall der Steigung (84,4% des Ausgangswertes) und zu einem hochsignifikanten Abfall der maximalen Aggregation (87,8%). Die Steigung in der Aggregationsmessung stellt die Phase der primären Aggregation dar. Stimulierte Plättchen kollidieren, und es bilden sich lockere Aggregate. Die Anwesenheit von Kalzium und Fibrinogen ist essentiell (Born, 1972). Wir gehen davon aus, dass es sich bei der Abflachung der Steigung um einen dilutionsbedingten Effekt handelt. Es ergaben sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen, allerdings war der Abfall der Steigung in der HES 200-Gruppe am deutlichsten. Warren et al behaupteten, HES bilde zusammen mit FVIII und Fibrinogen einen Komplex (Warren, 1997). Damit stünde weniger Fibrinogen zur Verfügung und es käme zu einer Abflachung der Kurve in der Aggregationsmessung. Wir halten diesen Effekt als Erklärung für unwahrscheinlich. HES 130 müsste demnach eine ähnliche Wirkung zeigen. In dieser Gruppe ist der Abfall der Steigung jedoch am geringsten. Die maximale Aggregation stellt die Phase der irreversiblen

Aggregation dar. Auch hier ergaben sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen. Sie ist jedoch in der Ringer-Gruppe am geringsten, was die Vermutung eines dilutionsbedingten Effektes unterstützt, denn hier zeigen die beiden Kolloidlösungen geringere Wirkung auf die maximale Aggregation.

Postoperativ (t3) kommt es zu einem erneuten, signifikanten Anstieg der Steigung, was auf ein erhöhtes Hämostasepotenzial zurückzuführen ist und sich mit den Ergebnissen der in-vitro Blutungszeit deckt. Die maximale Aggregation nahm annähernd präoperative Werte an. In der HES 200-Gruppe zeigte sich erneut eine Abflachung der Steigung, allerdings nicht in dem Ausmaß wie es zum Zeitpunkt t2 zu sehen war. Die Unterschiede zwischen den Gruppen sind nicht signifikant. Die Wirkung von HES auf die Thrombozytenaggregationsfähigkeit und die Wirkung des Blutverlustes in der HES 200 Gruppe sind schwer voneinander abzugrenzen. Krzywanek beschrieb eine signifikante Korrelation zwischen ADP-induzierter Aggregation und der Thrombozytenzahl (Krzywanek, 1987). Bei Patienten mit ohnehin niedriger Thrombozytenzahl ist es zunehmend schwieriger ausreichend PRP zu erhalten, um eine aussagekräftige Messung durchzuführen (Ingerman-Wojenski, 1983). Eine ungewöhnlich niedrige Thrombozytenzahl beeinflusst die Messung (McKenzie, 1999). Eine weitere Erklärungsmöglichkeit könnte die Wirkung von HES auf die Expression von GP IIb/IIIa sein. Eine geringere Expression führt zu einer verminderten Aggregation. Ebenso könnte eine geringere Konzentration des vWF dafür verantwortlich sein. Mishler schrieb allen Kolloiden einen fibrinoplastischen Effekt zu. Dieser sei dosis- und molekulargewichtsabhängig und verändere die Fibrinogen umgebende Flüssigkeitsphase. Es kommt zu einer beschleunigten Umwandlung von Fibrinogen zu Fibrin (Mishler, 1984). Alle diese Faktoren sind für eine ADP-induzierte Aggregation von Bedeutung und ein Fehlen kann auf den Kurvenverlauf im Aggregometer Einfluss nehmen.

Die Ergebnisse der optischen Messung zum Zeitpunkt t3 stimmen nicht mit denen des PFA-100 überein. Es bleibt unklar, inwieweit sich diese Tests vergleichen lassen. Escudero et al zeigten vergleichbare Ergebnisse mit der optischen Aggregometrie und dem PFA-100 (Escudero, 2001), Lepántalo beschrieb Korrelationen bei gesunden Probanden, trotz Unterschiede in der Sensitivität der Tests (Lepántalo, 2001), während Salat et al kaum Korrelationen der einzelnen Tests aufzeigten (Salat, 2002).

Die Ergebnisse, die wir in den vorangegangenen Untersuchungen erhielten, konnten wir in der optischen Aggregometrie mit Ristozetin als aggregationsauslösende Substanz nicht nachweisen. Die ristozetininduzierte Aggregation ist bei einer Reihe von Patienten mit von Willebrand-Syndrom gehemmt. Nach längerer Gabe von HES wurden bei Patienten von Willebrand ähnliche Symptome beobachtet (San Felippo, 1987). Unter der Annahme, dass HES Einfluss auf die Blutgerinnung nehme bzw. es zu einer Hämodilution nach Kolloidgabe komme, erwarteten wir eine Abnahme der Steigung und der maximalen Aggregation zu den Zeitpunkten t2 und t3. Dies ließ sich nicht aufzeigen.

In dieser Arbeit wurde die Durchführung der optischen Messung wie folgt gewählt: PRP wurde mit 2 µL Ristozetin versetzt, nach jeder Minute wurden weitere 1 µL Ristozetin hinzugegeben, bis die Trübungsabnahme 33% des Ausgangswertes überschritten hatte. Ob eine weitere Zugabe von Ristozetin erforderlich war, unterlag der subjektiven Einschätzung des Untersuchers. Dies zeigte sich als deutlicher Nachteil dieser Methode. Die lange Vorbereitungszeit - Präparation der Proben, Zentrifugation mit Risiko der Plättchenaktivierung und die Beeinflussung niedriger Thrombozytenzahlen (McKenzie, 1999) - machten die optische Aggregometrie sehr störanfällig. In dieser Arbeit kommt hinzu, dass sich die optische Messung mit Ristozetin als letzte in der Reihe der Thrombozytenfunktionsmessungen anschloss und sich damit erhebliche zeitliche Unterschiede, was den Beginn der Messung betraf, einstellten. Nicht verbrauchtes Ristozetin kann eingefroren werden und hat dann eine Mindesthaltbarkeitsdauer von 30 Tagen. Diese wurde von unserer Arbeitsgruppe aus Kostengründen zum Teil überschritten. In welchem Ausmaß dies eine Wirkung auf die Messungen besitzt, konnten wir nicht evaluieren.

Die Impedanzaggregometrie misst die induzierte Thrombozytenaggregation im Vollblut. Durch Anlagerung der Thrombozyten auf zwei Platinelektroden kommt es zu einer Änderung des elektrischen Widerstandes. Im Gegensatz zur Messung im PRP entfällt die Notwendigkeit der Zentrifugation und die aufwendige Präparation des PRP. Nicholson et al zeigten ähnliche Ergebnisse bei Messungen mit Vollblutaggregometrie und der optischen Aggregometrie (Nicholson, 1998). Serebruany et al zeigten ebenso ähnliche Ergebnisse bei Vergleichen der Vollblutaggregometrie mit der scherkraftinduzierten Okklusionszeit und der Expression von GP IIb/IIIa (Serebruany, 2002).

Nach Gabe der Infusionslösungen kam es in unserer Studie zu den Zeitpunkten t2 und t3 zu einer signifikanten Zunahme der maximalen Aggregation. Dies entspricht nicht den erwarteten Ergebnissen und korreliert nicht mit den anderen Tests. Entweder liegt es an einer

in-vivo Vor-Aktivierung der Thrombozyten oder an einer Interaktion mit den übrigen Blutzellen, insbesondere den Leukozyten, da die Zahl der Erythrozyten zu beiden Messzeitpunkten abgenommen hat.

Ein weiterer Aspekt der vorgelegten Arbeit war die Quantifizierung des zirkulierenden Blutvolumens zu den genannten Zeitpunkten mit zwei unterschiedlichen Tracerdilutionsmethoden. Das Erythrozytenvolumen (RCV) wurde mittels Natriumfluorescein markierter Erythrozyten bestimmt, eine Methode, die 1991 erstmals durch Lauermann Verwendung fand (Lauermann, 1991). Dabei wird das Verhältnis von markierten zu unmarkierten Erythrozyten mit Hilfe des Durchflusszytometers bestimmt und dadurch das Blutvolumen berechnet.

Die Bestimmung des Plasmavolumens gründet auf der Messung der Indocyaningrünkonzentration im strömenden arteriellen Blut mittels diskontinuierlicher Messung zu drei Zeitpunkten. Bei dieser Methode muss der Farbstoff an Plasmaproteine gebunden sein, um so den Verteilungsraum zu markieren (Orth, 2001).

In unserer klinischen Studie kam es nach Infusion von 1000 ml HES- bzw. 2000 ml Ringer-Lösung zu einem leichten Anstieg des Blutvolumens bei der Bestimmung des RCV, jedoch nicht in dem erwarteten Ausmaß. Es fanden sich keine statistischen Unterschiede zwischen den Gruppen. Das Blutvolumen bei der Bestimmung mittels Indocyaningrün nahm in der HES 130- und der Ringer-Gruppe ab, in der HES 200-Gruppe nahm es leicht zu.

Das Ausbleiben des erwarteten Blutvolumenanstiegs zum Zeitpunkt t2 führen wir unter anderem auf die erhöhte Gefäßpermeabilität im anästhesierten Gebiet der Periduralanästhesie zurück. Durch Änderung der Permeabilität der Membran für Makromoleküle kann ein Teil des applizierten Indocyaningrüns den Intravasalraum verlassen und damit zu einem verfälschten Messergebnis führen (Orth, 2001). Ein Verlust des Farbstoffes würde jedoch zu einem größeren errechneten Plasmavolumen führen. Da sich das Plasmavolumen zum Zeitpunkt t2 verringerte, ist dieser Einflussfaktor zu vernachlässigen. Änderungen des Plasmavolumens, wie dies nach Einleitung einer Allgemeinanästhesie zu finden ist, verfälschen ebenfalls die Messergebnisse (Rehm, 2000). Es kommt zu Veränderungen der mikrovaskulären Membran und damit zu einem Ausstrom des Plasmavolumens aus dem Intravasalraum bei konstanter Anzahl an Plasmaproteinen. Das errechnete Plasmavolumen wäre hier geringer.

Im Gegensatz zu Plasmaproteinen und Leukozyten verlassen Erythrozyten unter physiologischen Bedingungen nicht das Gefäßbett. Das Gesamtvolumen aller Erythrozyten (Erythrozytenvolumen) ist beim Menschen über längere Zeit konstant (Haller, 1997), allerdings kann es bei längerer Orthostase zu einer Veränderung des Erythrozytenvolumens kommen (Greenleaf, 1979). In der vorgelegten Arbeit kam es zum Messzeitpunkt t2 in allen drei Gruppen zu einem Anstieg des Blutvolumens durch Bestimmung des Erythrozytenvolumens. Es ergaben sich keine statistischen Unterschiede zwischen den Gruppen, allerdings zeigte sich in der HES 200 Gruppe der geringste Volumeneffekt. Christensen et al berichteten über eine große Variationsbreite der Aktivität der  $\alpha$ -Amylase im Blut, die zu einer interindividuellen Änderung des initialen Volumeneffekts führen kann (Christensen, 2001). Ebenso spielt der Substitutionsgrad der Hydroxyethylgruppen am Glukosemolekül beim Abbau der HES-Moleküle aus dem Blut eine Rolle. Hydroxyethylgruppen verzögern die Hydrolyse durch die  $\alpha$ -Amylase. Der niedrigere Substitutionsgrad der HES 130-Lösung scheint hier keinen Einfluss auf die initiale Volumensubstitution zu haben.

Zum Messzeitpunkt t3 war das Blutvolumen in der HES 130- ( $80,94 \pm 14,40 \%$ ) und der HES 200- ( $92,96 \pm 26,91\%$ ) Gruppen im Vergleich zu dem präoperativen Blutvolumen deutlich verringert. In der Ringer-Gruppe war es leicht erhöht. Statistisch signifikant war dies im Vergleich der HES 130- mit der Ringer Gruppe. Aufgrund des enormen Blutverlustes in der HES 200-Gruppe und des damit verbundenen Transfusionsbedarfs lassen sich die Volumensubstitutionseffekte schwer miteinander vergleichen. Statistische Unterschiede zwischen den beiden Kolloiden sind nicht zu finden.

Die Infusionsvolumina waren in der HES 200 Gruppe signifikant größer als in den beiden anderen Gruppen, der Verbrauch an Erythrozytenkonzentraten war in der HES 200 Gruppe ebenfalls signifikant größer, ebenso der vom Anästhesisten geschätzte Blutverlust. Wie bereits erwähnt, ist der Blutverlust in der HES 200 Gruppe eher auf schwierige chirurgische Verhältnisse zurückzuführen als auf die gerinnungsinhibitorische Wirkung von HES. Es gibt keine statistischen Unterschiede zwischen HES 130 und Ringer in Bezug auf die Infusionsvolumina, den geschätzten Blutverlust und die Gabe von Erythrozytenkonzentraten.

## **4.2. Schlussfolgerungen**

Nach Gabe von HES 200, HES 130, Ringer Lösung und isotoner Kochsalzlösung kommt es zu Veränderungen der Gerinnselfestigkeit, Gerinnselbildungszeit, Blutungszeit, Plättchenaggregation und Thrombozytenfunktion.

Die Veränderungen der Parameter in den Messungen der Thrombozytenfunktion sind auf die relative Abnahme der plasmatischen und zellulären gerinnungsaktiven Bestandteile nach Hämodilution zurückzuführen und hinsichtlich des zeitlichen Verlaufs auf operationsbedingte Veränderungen der Hämostase. Es kam zu keinen Unterschieden bezüglich der Gruppen. Der hohe Blutverlust in der HES 200 Gruppe ist auf erschwerte chirurgische Bedingungen zurückzuführen. Die verwendeten Volumensubstitutionslösungen sind unserer Ansicht nach sicher. Große Volumina HES 200 und 130 sollten jedoch bei Patienten mit vorbestehenden Blutgerinnungsstörungen mit Vorsicht verwendet werden.

Die beiden kolloidalen Lösungen zeigten hinsichtlich ihrer Volumensubstitution keine Unterschiede. Es kam bei beiden zu einer Erhöhung des intravasalen Volumens.

Die Methode zur Bestimmung des Plasmavolumens mit ICG zeigte sich in der von uns gewählten Form mit drei Messpunkten pro Injektion als sehr störanfällig. Die RCV-Bestimmung mittels Durchflusszytometer scheint aufgrund ihrer ebenfalls geringeren Invasivität und größeren Genauigkeit zuverlässiger zur Bestimmung des zirkulierenden Blutvolumens zu sein. Im klinischen Alltag ist die Anwendung auf stabile Situationen beschränkt, da die Ergebnisse erst nach etwa einer Stunde vorliegen.

### **4.3. Zusammenfassung**

Die Thrombozytenfunktion wird durch Hydroxyethylstärkelösungen verändert. Die klinische Relevanz ist umstritten. Ziel der Arbeit war es, die Einflüsse zwei verschiedener Hydroxyethylstärkelösungen (HES 6%, MW 200/0,5; HES 6%, MW 130/0,4) und Ringer-Lösung bzw. NaCl 0,9% auf die Thrombozytenfunktion zu untersuchen. Dabei sollte geklärt werden, ob HES 6% (130/0,4) durch ihren reduzierten Substitutionsgrad, veränderte C2/C6 ratio und durch eine engere Molekulargewichtsverteilung einen günstigeren Einfluss auf die Aktivität der Thrombozyten hat als HES 6% (200/0,5).

In einer prospektiven, randomisierten Doppelblindstudie untersuchten wir den Einfluss von HES 200/0,5, HES 130/0,4 und als Kontrollgruppe Ringer-Lösung auf die Thrombozytenfunktion und auf das zirkulierende Blutvolumen. Die Ergebnisse von 18 urologischen Patienten, die sich entweder einer radikalen Prostatektomie oder einer Adenomektomie in kombinierter Allgemein- und Periduralanästhesie unterzogen, wurden ausgewertet. Blut wurde zu drei Messzeitpunkten entnommen. Nach Narkoseeinleitung (t1), nach Gabe der initialen Infusionsmenge (1000 ml HES bzw. 2000 ml Ringer) (t2) und 4 Stunden nach Hautnaht (t3). Dabei betrugen die durchschnittlichen Infusionsmengen in der HES 130-Gruppe 1667 ml, in der HES 200-Gruppe 3583 ml und in der Ringer-Gruppe 4433ml.

In einer zweiten Studie untersuchten wir in-vitro die Thrombozytenfunktion von 12 gesunden männlichen Probanden nach Inkubation mit HES 200, HES 130 und isotoner Kochsalzlösung.

Es wurden Messungen zur Thrombelastographie, in-vitro Blutungszeit, Impedanzaggregometrie, optischen Aggregometrie, Bestimmung des Erythrozytenvolumens mittels Fluorescein, Bestimmung des Plasmavolumens mittels Indocyaningrün, Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit und zum Blutbild durchgeführt.

In der klinischen Studie zeigte sich nach Infusion von 1000 ml HES- bzw. 2000 ml Ringer-Lösung in den Messungen der Thrombozytenfunktion ein Zustand verringerter Blutgerinnung, den wir auf die relative Abnahme der plasmatischen und zellulären Bestandteile des Blutes zurückführen. Postoperativ kam es zum Messzeitpunkt t3 in allen Gruppen zu einem Zustand erhöhter Blutgerinnung, was wir im Rahmen der Stressantwort des Organismus erklären. Das Blutvolumen stieg nicht in dem erwarteten Ausmaß an. Hierbei zeigte sich die

---

Erythrozytenvolumenbestimmung mit Fluorescein-Natrium als präziser und methodisch weniger störanfällig.

Die in-vitro Studie zeigte keine klinisch relevanten Unterschiede zwischen den einzelnen Infusionslösungen.

Die verwendeten Infusionslösungen sind auch bei Gabe von großen Volumina hinsichtlich ihres Einflusses auf das Blutgerinnungssystem als sicher zu betrachten. Sie sollten nur bei Patienten mit bekannten Blutgerinnungsstörungen zusätzlich mit entsprechender Thrombozytenfunktionsdiagnostik verwendet werden.



---

#### **4.4. Summary**

Changes in thrombocyte function after volume substitution with hydroxyethylstarch have been demonstrated. The clinical relevance of this finding is controversial. We investigated the influence of two preparations of hydroxyethylstarch (HES 6%, MW 200/0,5 and HES 6%, MW 130/0,4) and Ringer's solution, respectively normal saline, on thrombocyte function. The goal of our study was to determine whether HES 6% (130/0,4) with its lower degree of substitution, different C2/C6 ratio and lower mean molecular weight has less impact on thrombocyte function than HES 6% (200/0,5).

In the clinical part of the study a prospective, randomised and double-blinded design was used to determine alterations in thrombocyte function and circulating blood volume after application of HES 6% (200/0,5), HES 6% (130/0,4) and Ringer's solution. Data from 18 patients scheduled for either radical prostatectomy or adenomectomy in combined general and peridural anaesthesia was evaluated. Blood samples were drawn immediately after anaesthesia induction (t1), after the initial bolus of volume substitution (1000ml HES or 2000 ml Ringer's solution) (t2) and 4 hours after the last skin suture (t3). The total amount of infused volume was 1667 ml in the HES 130 group, 3583 ml in HES 200 group and 4433 ml in Ringer's solution group.

In a second *in-vitro* part, we compared the thrombocyte function of 12 healthy volunteers, after incubating the thrombocytes with either HES 200, HES 130 or saline, using thrombelastography, *in-vitro* bleeding time, impedance aggregometry, optical aggregometry, blood cell count and sedimentation rate. Furthermore, red cell volume and plasma volume were determined using the fluorescein tracer dilution and indocyanine green methods.

In the clinical part of the study, we observed an impairment of coagulation after the initial bolus of volume substitution (t2). We attributed this to a decreased availability of coagulation factors and blood cells due to dilution. Postoperatively (t3) we found a state of increased coagulation activity, which can be explained by the activation of the stress response of the organism due to surgery. Blood volume did not increase as expected. Measurement of red cell volume with fluorescein sodium was more precise and less susceptible to artefacts than the plasma volume measurement with indocyanine green.

---

The in-vitro part of the study demonstrated no clinically relevant differences between the different methods of volume substitution.

All of the evaluated means of volume support were found to be safe in respect to their influence of blood coagulation, even after infusion of large volumes. In patients with pre-existing coagulopathies thrombocyte function monitoring should however be used.

---

## 5. Literatur

Abbate R, Favilla S, Boddi M, et al. Factors influencing platelet aggregation in whole blood. Am J Clin Pathol. 1986; 86: 91-6

Agam G, Argaman A, Livne A. Thrombin-induced platelet aggregation is affected by external  $\text{Na}^+$  independently of the  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  exchange. FEBS Lett 1989; 244: 231-6

Baldassarre S, Vincent JL. Coagulopathy induced by Hydroxyethyl Starch. Anesth Analg 1997; 84: 451-3

Blaicher AM, Reiter WJ, Blaicher W. The effect of hydroxyethyl starch on platelet aggregation in vitro. Anesth Analg 1998; 86: 1318-21

Boldt J, Knothe C, Zickmann B, et gg. Influence of different intravascular volume therapies on platelet function in patients undergoing cardiopulmonary bypass. Anesth Analg 1993; 76: 1185-90

Boldt J, Lehmann A, Römpert R, et al. Volume therapy with a new hydroxyethyl starch solution in cardiac surgical patients before cardiopulmonary bypass. J Cardiothorac Vasc Anesth 2000; 14: 264-8

Boldt J. Hydroxyethylstärke (HES). Wien Klein Wochenschr 2004; 116/5: 159-69

Born GVR. Quantitative investigations into the aggregation of blood platelets. J Physiol. 1962; 162: 67-8

Cardinal DC, Flower RJ. The electronic aggregometer: A novel device for assessing platelet behaviour in blood. Journal of Pharmacological Methods 1980; 3: 135-58

Claes Y, Van Hemelrijck J, Van Gerven M. Influence of hydroxyethyl starch on coagulation in patients during the perioperative period. Anesth Analg 1992; 75: 24-30

---

Christensen P, Andersson J, Rasmussen SE, et al. Changes in circulating blood volume after infusion of hydroxyethyl starch 6% in critically ill patients. *Acta Anaesthesiol Scand* 2001; 45: 414-20

Cully MD, Larson CP, Silverberg GD. Hetastarch coagulopathy in a neurosurgical patient. *Anesthesiol.* 1987; 66: 706-7

Damon L, Adams M, Stricker RB, Ries C. Intracranial bleeding during treatment with hydroxyethylstarch. *N. Eng. J. Med.* 1987; 317: 964-5

Dietrich GV, Kretschmer V, Weber D. Variables influencing the Thrombostat 4000: Recommended standardization. *Seminars in Thrombosis and Hemostasis.* 1995; 21(Supp.2): 11-19

Dietrich GV, Schueck R, Menges T, et al. Comparison of four methods for the determination of platelet function in whole blood in cardiac surgery. *Thromb Res* 1998; 89: 295-301

Diodati JG, Cannon RO, Epstein SE, Quyyumi AA. Platelet hyperaggregability across the coronary bed in response to rapid atrial pacing in patients with stable coronary artery disease. *Circulation* 1992; 86: 1186-93

Entholzner EK, Mielke LL, Calatzis AN, et al. Coagulation effects of a recently developed hydroxyethyl starch (HES 130/0,4) compared to hydroxyethyl starch with higher molecular weight. *Acta Anaesthesiol Scand* 2000; 44: 1116-21

Escudero C, Santos M, Bujan J, et al. Optical aggregometry versus PFA-100: experimental studies in pigs treated with propofol. *Platelets* 2001; 12(3): 133-7

Felfernig-Boehm D, Salat A, Kinstner C, et al. Influence of hypotensive and normotensive anesthesia on platelet aggregability and hemostatic markers in orthognathic surgery. *Thrombosis Research* 103 (2001); 185-92

Franz A, Bräunlich P, Gamsjäger T, et al. The effects of hydroxyethylstarches of varying molecular weights on platelet function. *Anesth Analg* 2001; 92: 1402-7

---

Gold MS, Russo J, Tissot M, et al. Comparison of hetastarch to albumin for perioperative bleeding in patients undergoing abdominal aortic aneurysm surgery. *Ann Surg* 1990; 211: 482-5

Greenleaf JE, Convertino VA, Mangseth GR. Plasma volume during stress in man: osmolality and red cell volume. *J Appl Physiol* 1979; 47(5): 1031-8

Haisch G, Boldt J, Krebs C, et al. The influence of intravascular volume therapy with a new hydroxyethyl starch preparation (6% HES 130/0,4) on coagulation in patients undergoing major abdominal surgery. *Anesth Analg* 2001; 92: 565-71

Haller M, Dressel H, Thiel M, et al. Determination of red-cell volume with a nonradioactive marker (sodium fluorescein) in humans using flow cytometry. *Infusionsther Transfusionsmed* 1997; 24: 132-7

Hartig W. *Moderne Infusionstherapie Parenterale Ernährung*. 5.Auflage. Urban & Schwarzenberg. 1984

Heemskerk JWM, Ververs EM, Lindhout T. Platelet activation and blood coagulation. *Thromb Haemost* 2002; 88: 186-93

Heim MU, Böck M. Thrombozytäre Gerinnungsstörungen. *Anästhesiologie & Intensivmedizin* 1999; 3 (40): 147-50

Heinrich D, Scharf T, Santoro S, et al. Monoclonal antibodies against human glycoproteins IIb/IIIa: two different effects on platelet function. *Thromb Res* 1985; 38: 547-59

Hobisch HP, Wirleitner B, Mair J, et al. Consequences of acute normovolaemic haemodilution on haemostasis during major orthopaedic surgery. *Br J Anaesth* 1999; 82: 503-509

Ingerman-Wojenski C, Smith JB, Silver MJ. Evaluation of electrical aggregometry: comparison with optical aggregometry, secretion of ATP, and accumulation of radiolabeled platelets. *J Lab Clin Med* 1983; 101: 44-52

---

Jamnicky M, Zollinger A, Seifert B, et al. Compromised blood coagulation: An in vitro comparison of hydroxyethyl starch 130/0,4 and hydroxyethyl starch 200/0,5 using thrombelastography. *Anesth Analg* 1998; 87: 989-93

Jamnicky M, Bombeli T, Seifert B, et al. Low- and medium-molecular-weight hydroxyethyl starches. *Anesthesiology* 2000; 93: 1231-7

Kao KJ, Tsai BS, McKee PA, et al. Inhibitory effect of ristocetin and factor VIII/ von Willebrand Factor protein on human platelet adenylate cyclase activity. *Thromb Res* 1983; 30: 301-8

Konrad C, Markl T, Schuepfer G, et al. The effects of in vitro hemodilution with gelatin, hydroxyethyl starch and lactated Ringer's solution on markers of coagulation: An analysis using SONOCLOT®. *Anesth Analg* 1999; 88: 483-8

Kundu SK, Heilmann EJ, Sio R, et al. Description of an in vitro platelet function analyzer-PFA-100. *Semin Thromb Hemostas* 1995; 21 (Suppl 2): 106-12

Kupiotis S, Quehenberger P, Eichler H, et al. Effect of hydroxyethyl starch on the activity of blood coagulation and fibrinolysis in healthy volunteers: comparison with albumin. *Crit Care Med* 1994; 22: 606-12

Lauermann I. Eine neue Methode zur Bestimmung des zirkulierenden Blutvolumens – Erythrozytenmarkierung mit Fluorescein-Natrium. *Infusionstherapie* 1991; 18: 130-6

Lauermann I, Wilhelm G, Kirchner E. Blood volume determination with sodium fluorescein and radioactive chromium – A clinical comparison of methods. *Infusionsther Transfusionsmed* 1994; 21: 138-42

Lenz K, Schimetta W, Pölz W, et al. Intestinal elimination of hydroxyethyl starch? *Intensive Care Med* 2000; 26: 733-9

---

Lepäntalo A, Beer JH, Siljander P, et al. Variability in platelet responses to collagen-comparison between whole blood perfusions, traditional platelet function test and PFA-100. *Thromb Res* 2001; 103: 123-33

Lin H, Young DB. Interaction between plasma potassium and epinephrine in coronary thrombosis in dogs. *Circulation* 1994; 89: 331-8

Mahla E, Lang T, Vicenzi MN. Thrombelastography for monitoring prolonged hypercoagulability after major abdominal surgery. *Anesth Analg* 2001; 92: 572-7

Mandell MS, Wachs M, Niemann CU, et al. Elimination of indocyanine green in the perioperative evaluation of donor liver function. *Anesth Analg* 2002; 95: 1182-4

Mammen EF, Alshameri RS, Comp PC. Preliminary data from a field trial of the PFA-100 system. *Semin Thromb Hemostas* 1995; 21(Suppl 2):113-21

Mammen EF, Comp PC, Gosselin R, et al. PFA-100 system : A new method for assessment of platelet dysfunction. *Semin Thromb Hemostas* 1998; 24: 195-202

McKenzie ME, Gurbel PA, Levine DJ, et al. Clinical utility of available methods for determining platelet function. *Cardiology* 1999; 92: 240-7

Mishler JM. Synthetic plasma volume expanders-their pharmacology, safety and clinical efficacy. *Clin Haematol* 1984; 13(1): 75-92

Mongan PD, Hosking MP. The role of desmopressin acetate in patients undergoing coronary artery bypass surgery. *Anesthesiology* 1992; 77: 38-46

Monroe DM, Hoffman M. Coagulation factor interaction with platelets. *Thromb Haemost* 2002; 88: 179

Munsch CM, MacIntyre E, Machin SJ. Hydroxyethyl starch: an alternative to plasma for postoperative volume expansion after cardiac surgery. *Br J Surg* 1988; 75: 675-8

---

Ng KFJ, Lam CCK, Chan LC. In vivo effect of haemodilution with saline on coagulation: a randomized controlled trial. *British Journal of Anaesthesia* 2002; 88(4): 475-80

Nicholson NS, Panzer-Knodle SG, Haas NF, et al. Assessment of platelet function assays. *Am Heart J* 1998; 135(5 Pt 2 Su): S170-8

Niemi TT, Kuitunen. Hydroxyethyl starch impairs in vitro coagulation. *Acta Anaesthesiol Scand* 1998; 42: 1104-9

Orth VH, Rehm M, Haller M, et al. Die Messung des Blutvolumens – aktueller Stand. *Anaesthesist* 2001; 50: 562-8

Ouaknine-Orlando B, Samama CM, Riou B, et al. Role of the hematocrit in a rabbit model of arterial thrombosis and bleeding. *Anaesthesia* 1999; 90: 1454-61

Petroianu GA, Liu J, Maleck WH, et al. The effect of in vitro hemodilution with gelatin, dextran, hydroxyethylstarch or ringer's solution on thrombelastograph. *Anesth Analg* 2000; 90: 795-800

Poujol C, Nurden A, Paponneau A, et al. Ultrastructural analysis of the distribution of von Willebrand factor and fibrinogen in platelet aggregates formed in the PFA-100. *Platelets* 1998; 9: 381-9

Rehm M, Orth VH, Kreimeier U, et al. Changes in intravascular volume during acute normovolemic hemodilution and intraoperative retransfusion in patients with radical hysterectomy. *Anesthesiology* 2000; 92: 657-64

Ruttmann TG, James MF, Viljoen JF. Haemodilution induces a hypercoagulable state. *British Journal of Anaesthesia* 1996; 76: 412-4

Ruttmann TG, James MF, Aronson I. In vivo investigation into the effects of haemodilution with hydroxyethyl starch (200/0,5) and normal saline on coagulation. *British Journal of Anaesthesia* 1998; 80: 612-6



---

Ruttmann TG, James MF. Pro-coagulant effect of in vitro haemodilution is not inhibited by aspirin. *British Journal of Anaesthesia* 1999; 83 (2): 330-2

Salat A, Kroess S, Felfernig-Boehm D, et al. Comparison of in vitro closure time (PFA-100) with whole blood electrical aggregometry and platelet surface antigen expression in healthy volunteers. *Thromb Res* 2002; 105: 205-8

San Felippo MJ, Suberviola PD. Development of a von Willebrand-like syndrome after prolonged use of hydroxyethyl starch. *Am J Clin Pathol* 1987; 43: 391-3

Serebruany V, McKenzie M, Meister A, et al. Whole blood impedance aggregometry for the assessment of platelet function in patients with congestive heart failure (EPCOT Trial). *Eur J Heart Fail* 2002; 4(4): 461-7

Scheingraber S, Rehm M, Sehmisch C, et al. Clinical application of a new acid base theory in crystalloid infusion therapy. *AINS* 1998; 33: FP-E 201.7

Sharma SK, Phillip J, Whitten CW, et al. Assessment of changes in coagulation in parturients with preeclampsia using thrombelastography. *Anesthesiology* 1999; 90: 385-90

Spiess BD, Gillies BSA, Chandler W, et al. Changes in transfusion therapy and reexploration rate after institution of a blood management program in cardiac surgical patients. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 1995; 9: 168-73

Stögermüller B, Stark J, Willschke H, et al. The effect of hydroxyethyl starch 200 kD on platelet function. *Anesth Analg* 2000 ;91: 823-7

Strauss RG, Stump DC, Henriksen RA. Hydroxyethyl starch accentuates von Willebrand's disease. *Transfusion* 1985; 25: 235-7

Strauss RG, Stanfield C, Henriksen RA. Pentastarch may exert fewer effects on coagulation than hetastarch. *Transfusion* 1988; 28: 257-60

---

Treib J, Haass A, Pindur G, et al. HES 200/0,5 is not HES 200/0,5. *Thromb Haemostas* 1995; 74 (6): 1452-6

Treib J, Haass A, Pindur G, et al. Influence of intravascular molecular weight of hydroxyethyl starch on platelets. *Eur J Haematol* 1996; 56:168-72 **a**

Treib J, Haass A, Pindur G, et al. All medium starches are not the same : Influence of the degree of hydroxyethyl substitution of hydroxyethyl starch on plasma volume, hemorrheologic conditions and coagulation. *Transfusion* 1996; 36: 450-5 **b**

Treib J, Haass A. Rheologische Eigenschaften von Hydroxyethylstärke. *Dtsch Med Wochenschr* 1997 Oct 24; 122 (43): 1319-22

Trumble ER, Muizelaar JP, Mysers JS, et al. Coagulopathy with the use of hetastarch in the treatment of vasospasm. *J Neurosurg* 1995; 82: 44-7

Tuman KJ, Spiess BD, McCarthy RJ, et al. Comparison of viscoelastic measures of coagulation after cardiopulmonary bypass. *Anesth Analg* 1989; 69: 69-75

Villarino ME, Gordon SM, Valdon C, et al. A cluster of severe postoperative bleeding following open heart surgery. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1992; 13: 282-7

Vogt N, Brinkmann A, Georgieff M. Effekte von HES, Dextran und Gelatine auf die Nierenfunktion. *Anästhesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther* 1998;33:268-70

Warren BB, Durieux ME. Hydroxyethyl Starch: Safe or not? *Anesth Analg* 1997; 84: 206-12

Whitten CW, Greilich PE. Thrombelastography. Past, present and future. *Anesthesiology* 2000; 92: 1223-5

## 6. Anhang

### 6.1. Verzeichnis der Abbildungen

ABBILDUNG 1	ORIGINALREGISTRIERUNG EINER DOPPELBESTIMMUNG DER IMPEDANZAGGREGOMETRIE. ....	23
ABBILDUNG 2	ORIGINALREGISTRIERUNG EINES THROMBELASTOGRAMMES .....	26
ABBILDUNG 3	FUNKTIONSPRINZIP DES IN-VITRO BLUTUNGSTESTS .....	28
ABBILDUNG 4	ORIGINALREGISTRIERUNG EINES IN-VITRO BLUTUNGSTESTS. ....	29
ABBILDUNG 5	IMPEDANZAGGREGOMETRIE (NACH CARDINAL/FLOWER). MAXIMALE AGGREGATION VON VOLUVEN, HES UND RINGER.....	43
ABBILDUNG 6	IN-VITRO BLUTUNGSTEST MIT EPINEPHRIN IN DER VOLUVEN-GRUPPE .....	48
ABBILDUNG 7	IN-VITRO BLUTUNGSTEST MIT EPINEPHRIN IN DER HES-GRUPPE .....	48
ABBILDUNG 8	IN-VITRO BLUTUNGSTEST MIT EPINEPHRIN IN DER RINGER-GRUPPE.....	49
ABBILDUNG 9	INDUZIERTER THROMBOZYTENAGGREGATION MIT ADP IM PLÄTTCHENREICHEN PLASMA IN DER VOLUVEN-GRUPPE.....	50
ABBILDUNG 10	INDUZIERTER THROMBOZYTENAGGREGATION MIT ADP IM PLÄTTCHENREICHEN PLASMA IN DER HES-GRUPPE. ....	51
ABBILDUNG 11	INDUZIERTER THROMBOZYTENAGGREGATION MIT ADP IM PLÄTTCHENREICHEN PLASMA IN DER RINGER-GRUPPE. ....	51
ABBILDUNG 12	INDUZIERTER THROMBOZYTENAGGREGATION MIT RISTOZETIN IM PLÄTTCHENREICHEN PLASMA.....	53
ABBILDUNG 13	BLUTVOLUMEN MIT DER DURCHFLUSSZYTOMETRIE .....	55
ABBILDUNG 14	BLUTVOLUMEN MIT DER DURCHFLUSSZYTOMETRIE.....	55
ABBILDUNG 15	BESTIMMUNG DES BLUTVOLUMENS AM PHOTOMETER IN DER VOLUVEN-GRUPPE. ....	57
ABBILDUNG 16	BESTIMMUNG DES BLUTVOLUMENS AM PHOTOMETER IN DER HES-GRUPPE..	57
ABBILDUNG 17	BESTIMMUNG DES BLUTVOLUMENS AM PHOTOMETER IN DER RINGER-GRUPPE. ....	58
ABBILDUNG 18	ERYTHROZYTENKONZENTRATE IN ML IN ABHÄNGIGKEIT VON GRUPPENZUGEHÖRIGKEIT .....	62
ABBILDUNG 19	GESCHÄTZTER BLUTVERLUST IN ML IN ABHÄNGIGKEIT VON GRUPPENZUGEHÖRIGKEIT .....	62
ABBILDUNG 20	THROMBELASTOGRAPHIE (NACH HARTERT). VERÄNDERUNG DES PARAMETERS $r$ IN ABHÄNGIGKEIT VON GRUPPENZUGEHÖRIGKEIT .....	64
ABBILDUNG 21	THROMBELASTOGRAPHIE (NACH HARTERT). VERÄNDERUNG DES PARAMETERS $MA$ IN ABHÄNGIGKEIT VON GRUPPENZUGEHÖRIGKEIT .....	64
ABBILDUNG 22	BLUTKÖRPERCHENSENKUNGSGESCHWINDIGKEIT NACH 10 MINUTEN, 30 MINUTEN, 1 STUNDE UND 2 STUNDEN.....	67

## 6.2. Verzeichnis der Tabellen

TABELLE 1	EIN- UND AUSSCHLUSSKRITERIEN .....	18
TABELLE 2	BESCHREIBUNG DER MESSZEITPUNKTE .....	19
TABELLE 3	STANDARDISIERTE BLUTENTNAHME .....	20
TABELLE 4	ANTIKOAGULANTIEN UND STABILISATOREN .....	21
TABELLE 5	MATERIAL FÜR IMPEDANZAGGREGOMETRIE .....	24
TABELLE 6	MATERIAL FÜR THROMBELASTOGRAPHIE .....	27
TABELLE 7	MATERIAL FÜR IN-VITRO BLUTUNGSTEST .....	30
TABELLE 8	MATERIAL FÜR INDUZIERTER THROMBOZYTENAGGREGATION .....	32
TABELLE 9	MATERIAL FÜR DURCHFLUSSZYTOMETRIE .....	35
TABELLE 10	MATERIAL FÜR PHOTOMETRISCHE BESTIMMUNG DES PLASMAVOLUMENS .....	37
TABELLE 11	MATERIAL FÜR BLUTKÖRPERCHENSENKUNGSGESCHWINDIGKEIT .....	38
TABELLE 12	MATERIAL FÜR ZELLDIFFERENTIAL IM VOLLBLUT .....	40
TABELLE 13	IMPEDANZAGGREGOMETRIE (NACH CARDINAL/FLOWER) IN ABHÄNGIGKEIT VON GRUPPENZUGEHÖRIGKEIT UND MESSZEITPUNKT .....	42
TABELLE 14	IMPEDANZAGGREGOMETRIE (NACH CARDINAL/FLOWER) .....	43
TABELLE 15	THROMBELASTOGRAPHIE (NACH HARTERT) .....	44
TABELLE 16	THROMBELASTOGRAPHIE (NACH HARTERT) .....	44
TABELLE 17	IN-VITRO BLUTUNGSTEST MIT EPINEPHRIN .....	45
TABELLE 18	IN-VITRO BLUTUNGSTEST MIT EPINEPHRIN .....	46
TABELLE 19	IN-VITRO BLUTUNGSTEST MIT ADP .....	46
TABELLE 20	IN-VITRO BLUTUNGSTEST MIT ADP .....	47
TABELLE 21	INDUZIERTER THROMBOZYTENAGGREGATION MIT ADP IM PLÄTTCHENREICHEN PLASMA .....	49
TABELLE 22	INDUZIERTER THROMBOZYTENAGGREGATION MIT ADP IM PLÄTTCHENREICHEN PLASMA .....	50
TABELLE 23	INDUZIERTER THROMBOZYTENAGGREGATION MIT RISTOZETIN IM PLÄTTCHENREICHEN PLASMA .....	52
TABELLE 24	INDUZIERTER THROMBOZYTENAGGREGATION MIT RISTOZETIN IM PLÄTTCHENREICHEN PLASMA .....	52
TABELLE 25	BLUTVOLUMEN MIT DER DURCHFLUSSZYTOMETRIE .....	54
TABELLE 26	BLUTVOLUMEN MIT DER DURCHFLUSSZYTOMETRIE .....	54
TABELLE 27	BESTIMMUNG DES BLUTVOLUMENS AM PHOTOMETER .....	56
TABELLE 28	BESTIMMUNG DES BLUTVOLUMENS .....	56
TABELLE 29	ZELLDIFFERENTIAL IM VOLLBLUT .....	59
TABELLE 30	ZELLDIFFERENTIAL IM VOLLBLUT .....	60
TABELLE 31	INFUSIONSVOLUMEN IN ABHÄNGIGKEIT VON GRUPPENZUGEHÖRIGKEIT .....	61
TABELLE 32	GESCHÄTZTER BLUTVERLUST IN ABHÄNGIGKEIT VON GRUPPENZUGEHÖRIGKEIT .....	61
TABELLE 33	IMPEDANZAGGREGOMETRIE (NACH CARDINAL/FLOWER) IN ABHÄNGIGKEIT VON GRUPPENZUGEHÖRIGKEIT .....	63
TABELLE 34	THROMBELASTOGRAPHIE (NACH HARTERT) IN ABHÄNGIGKEIT VON GRUPPENZUGEHÖRIGKEIT .....	63
TABELLE 35	IN-VITRO BLUTUNGSTEST IN ABHÄNGIGKEIT VON GRUPPENZUGEHÖRIGKEIT .....	65
TABELLE 36	INDUZIERTER THROMBOZYTENAGGREGATION MIT ADP IM PLÄTTCHENREICHEN PLASMA IN ABHÄNGIGKEIT VON GRUPPENZUGEHÖRIGKEIT .....	65
TABELLE 37	INDUZIERTER THROMBOZYTENAGGREGATION MIT RISTOZETIN IM PLÄTTCHENREICHEN PLASMA IN ABHÄNGIGKEIT VON GRUPPENZUGEHÖRIGKEIT .....	66

---

TABELLE 38	BLUTKÖRPERCHENSENKUNGSGESCHWINDIGKEIT IN ABHÄNGIGKEIT VON GRUPPENZUGEHÖRIGKEIT.. .....	66
------------	---	----

### 6.3. Verzeichnis der Abkürzungen

ADP	Adenosindiphosphat
BSG	Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit
bzw	beziehungsweise
C	Kohlenstoff
CaCl	Kalziumchlorid
CADP	Kollagen/Epinephrin beschichtete Patronen
CEPI	Kollagen/ADP beschichtete Patronen
Da	Dalton
EDTA	Ethylen-Diamin-Tetraacetat
EK	Erythrozytenkonzentrat
Fa	Firma
fl	Femtoliter
FSC	forward light scatter
G	Gauge
g	Gramm
GP	Glykoprotein
h	Stunde
Hb	Hämoglobin
HES	Hydroxyethylstärke
Hg	Quecksilber
Hkt	Hämatokrit
ICG	Indocyanningrün
ITN	Intubationsnarkose
kDa	Kilodalton
KG	Körpergewicht
kg	Kilogramm
MA	Maximale Amplitude
MCV	Mittleres korpuskuläres Erythrozytenvolumen
mbar	Millibar
min	Minute
ml	Milliliter
mm	Millimeter
mmol	Millimol
MPV	Mittleres korpuskuläres Thrombozytenvolumen
MS	Molarer Substitutionsgrad
MW	Mittelwert
Mw	Mittleres Molekulargewicht
NaCl	Natriumchlorid
nm	Nanometer
PDA	Periduralanästhesie
PFA	Platelet Function Analyser
Plt	Thrombozytenzahl
PPP	Plättchenarmes Plasma
PRP	Plättchenreiches Plasma
PTT	Partielle Thromboplastinzeit

---

r	Reaktionszeit
r+k	Gerinnselbildungszeit
RBC	Erythrozytenzahl
RCV	Erythrozytenvolumen
SSC	side scatter
STD	Standardabweichung
TEG	Thrombelastographie
vs	versus
vWF	von Willebrand-Faktor

## 6.4. Vorlagen zur Patientenaufklärung

JUSTUS-LIEBIG-



UNIVERSITÄT  
GIESSEN

Klinikum

Abteilung Anaesthesiologie u.  
Operative Intensivmedizin

Leiter: Prof. Dr. Dr. h.c. G. Hempelmann  
Tel.: (0641) 99-44431

### Patientenaufklärung zur Untersuchung "Blutersatzlösungen bei Prostataoperationen" - Stärkelösungen -

Sehr geehrter Patient,

sie werden an der Prostata operiert. Dabei treten zum Teil erhebliche Blutverluste ein. Diese Blutverluste können zunächst durch die Gabe künstlicher Blutersatzlösungen ausgeglichen werden. Die Blutersatzlösungen, die wir in hier untersuchen wollen, werden aus Maisstärke hergestellt. Große Stärketeilchen werden langsamer ausgeschieden, wirken also länger als kleine Teilchen. Andererseits vermuten wir jedoch, dass große Stärketeilchen das Blutgerinnungssystem deutlicher hemmen.

Das *Blutgerinnungssystem* wird normalerweise nur bei Verletzungen aktiviert. Ansonsten besteht ein kompliziertes Gleichgewicht zwischen Aktivierung und Hemmung der Blutgerinnung. Eine übermäßige Hemmung der Blutgerinnung bei Operationen kann zu vermehrter Blutung führen.

*Ziel unserer Untersuchung* ist es zu klären, ob Infusionslösungen, die kleine beziehungsweise große Stärketeilchen enthalten unterschiedliche Auswirkungen auf das Blutgerinnungssystem besitzen.

Dabei erhalten Sie zur Stabilisierung des Blutvolumens und zum Ausgleich von Blutverlusten eine der Stärkelösungen. Zu welcher Gruppe Sie gehören, bestimmt der Zufall. Beide Stärkelösungen sind von der Aufsichtsbehörde zugelassen und im Handel. Wir führen zu drei Zeitpunkten während und nach der Operation *aufwendige Blutuntersuchungen* durch. Dazu benötigen wir jeweils 30 ml Blut.

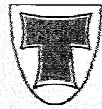
Sollten bei Ihnen auffällige Störungen festgestellt werden, informieren wir sofort Ihren behandelnden Arzt. Dieser könnte dann den Gerinnungsstörungen rechtzeitig mit Medikamenten entgegensteuern.

Prof. Dr. Dr. h. c. G. Hempelmann  
Leiter der Abteilung Anaesthesiologie  
und Operative Intensivmedizin

Privatdozent Dr. med. G. V. Dietrich  
Facharzt für Anaesthesiologie  
- Transfusionsmedizin -



JUSTUS-LIEBIG-

UNIVERSITÄT  
GIESSEN

Klinikum

Abteilung Anaesthesiologie u.  
Operative IntensivmedizinLeiter: Prof. Dr. Dr. h.c. G. Hempelmann  
Tel.: (0641) 99-44431

## Einwilligung zur Untersuchung "Blutersatzlösungen bei Prostataoperationen" - Stärkelösungen -

Frau/Herr \_\_\_\_\_

- hat mich anhand der vorliegenden Patienteninformation über Ablauf und Nutzen der geplanten Untersuchung aufgeklärt. Ich bin bereit, mir dreimal 30 Milliliter Blut entnehmen zu lassen.
- Ich bin darüber informiert, daß die erhaltenen Daten den Bestimmungen des Datenschutzgesetzes unterliegen.
- Ich bin berechtigt, jederzeit ohne Nachteile aus der Studie auszuscheiden
- Ich habe keine weiteren Fragen mehr.
- Ich habe eine Kopie der schriftlichen Aufklärung und dieser Einverständniserklärung erhalten.
- **Hiermit erkläre ich mich bereit, an der Untersuchung "Blutersatzlösungen bei Prostataoperationen" teilzunehmen.**

Gießen, den \_\_\_\_\_

Unterschrift des Patienten: \_\_\_\_\_

Unterschrift des Arztes: \_\_\_\_\_

JUSTUS-LIEBIG-

UNIVERSITÄT  
GIESSEN

Klinikum

Abteilung Anaesthesiologie u.  
Operative Intensivmedizin

Leiter: Prof. Dr. Dr. h.c. G. Hempelmann

Tel.: (0641) 99-44431

## Patientenaufklärung zur Untersuchung "Blutersatzlösungen bei Prostataoperationen" - Salzlösungen -

Sehr geehrter Patient,

sie werden an der Prostata operiert. Dabei treten zum Teil erhebliche Blutverluste ein. Diese Blutverluste können zunächst durch die Gabe künstlicher Blutersatzlösungen ausgeglichen werden.

Die Blutersatzlösungen, die wir in hier untersuchen wollen, werden aus Kartoffelstärke hergestellt. *Im Falle Ihrer Einwilligung würden Sie jedoch der Kontrollgruppe zugeordnet, die lediglich Salzlösungen erhält.* Diese Therapie ist in Deutschland nicht üblich, wird jedoch im Ausland, z.B. den USA erfolgreich angewandt. Den Salzlösungen fehlen die Nebenwirkungen der Stärkelösungen wie Einflüsse auf das Blutgerinnungssystem, auf das Immunsystems oder die Auslösung von Allergien. Jedoch ist zumindest die dreifache Menge an Salzlösung erforderlich, um einen Blutverlust auszugleichen. Dies kann zu Schwellungen insbesondere der Augenlider führen.

*Ziel unserer Untersuchung* ist es zu klären, ob Infusionslösungen, die kleine beziehungsweise große Stärketeilchen enthalten unterschiedliche Auswirkungen auf das Blutgerinnungssystem besitzen. Die Kontrollgruppe mit Salzlösung ist erforderlich, um gemeinsame Nebenwirkungen *beider* Stärkelösungen herauszuarbeiten.

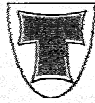
Wir führen zu drei Zeitpunkten während und nach der Operation *aufwendige Blutuntersuchungen* durch. Dazu benötigen wir jeweils *30 ml Blut*.

Sollten bei Ihnen auffällige Störungen festgestellt werden, informieren wir sofort Ihren behandelnden Arzt. Dieser könnte dann den Gerinnungsstörungen rechtzeitig mit Medikamenten entgegensteuern.

Prof. Dr. Dr. h. c. G. Hempelmann  
Leiter der Abteilung Anaesthesiologie  
und Operative Intensivmedizin

Privatdozent Dr. med. G. V. Dietrich  
Facharzt für Anaesthesiologie  
- Transfusionsmedizin -

---

**JUSTUS-LIEBIG-****UNIVERSITÄT  
GIESSEN****Klinikum****Abteilung Anaesthesiologie u.****Operative Intensivmedizin**

Leiter: Prof. Dr. Dr. h.c. G. Hempelmann

Tel.: (0641) 99-44431

**Einwilligung zur Untersuchung**  
**"Blutersatzlösungen bei Prostataoperationen"**  
- Salzlösungen -

Frau/Herr \_\_\_\_\_

- hat mich anhand der vorliegenden Patienteninformation über Ablauf und Nutzen der geplanten Untersuchung aufgeklärt. Ich bin bereit, mir dreimal 30 Milliliter Blut entnehmen zu lassen.
- Ich bin darüber informiert, daß die erhaltenen Daten den Bestimmungen des Datenschutzgesetzes unterliegen.
- Ich bin berechtigt, jederzeit ohne Nachteile aus der Studie auszuscheiden
- Ich habe keine weiteren Fragen mehr.
- Ich habe eine Kopie der schriftlichen Aufklärung und dieser Einverständniserklärung erhalten.
- **Hiermit erkläre ich mich bereit, an der Untersuchung "Blutersatzlösungen bei Prostataoperationen" - Kontrollgruppe Salzlösung - teilzunehmen.**

Gießen, den \_\_\_\_\_

Unterschrift des Patienten: \_\_\_\_\_

Unterschrift des Arztes: \_\_\_\_\_

### **6.5. Danksagung**

Ich widme diese Arbeit meinen Eltern, Irene und Herbert Möller.

Besonderen Dank gilt meinem Doktorvater PD Dr. Gerald Dietrich und Professor Dr. Dr. Gunter Hempelmann für die wissenschaftliche Förderung, die ich als Doktorand bei ihnen erfahren durfte.

Herzlich danken möchte ich Dr. Jan Hirsch und Dr. Tanja Langefeld für ihr persönliches Engagement bei der Betreuung der Arbeit.

Dank auch an Frau Weber für die Unterstützung im Labor.

Bedanken möchte ich mich auch bei den Patienten, die sich trotz ihrer schwierigen Lebenssituation zur Teilnahme an der Studie bereiterklärt haben. Ebensolcher Dank geht an die Probanden.

Für das Redigieren der Arbeit danke ich Julia, Stephand und Georg.

Meinen Freunden Sepp, Björn, Christian, Stephand und Tobi möchte ich für das Besondere in meinem Leben danken.

---

**6.6. Lebenslauf****Thorsten Möller**

Geboren am 21.12.1975 in Hanau

Korsörer Straße 17; 10437 Berlin

1982 – 1986	Grundschule Ostheim
1986 – 1995	Otto-Hahn-Schule Hanau, Gymnasium Abschluss: Abitur
01.08.95 – 31.08.96	Zivildienst: Arbeiter-Samariter-Bund Wetterau, Karben Bereich Rettungsdienst Abschluss: Rettungssanitäter
01.10.96 – 07.05.03	Studium der Humanmedizin an der Justus-Liebig-Universität Gießen Sept. 1999 – Feb. 2000 Studium der Humanmedizin an der University of Nottingham, England
01.07.03 – 30.09.04	Arzt im Praktikum in der Klinik für Anästhesiologie, Intensivmedizin und Schmerztherapie des Unfallkrankenhauses Berlin; Leiter: Prof. Dr. W. Schaffartzik
Seit 01.10.2004	Arzt in Weiterbildung in der Klinik für Anästhesiologie, Intensivmedizin und Schmerztherapie des Unfallkrankenhauses Berlin; Leiter: Prof. Dr. W. Schaffartzik